

**Pengaruh Penambahan Pandan Wangi dan Kayu Manis
sebagai *Flavouring Agent* pada Formula Teh Instan
berbasis Cincau Hitam terhadap Aktivitas Sistem Imun
pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi
*Salmonella typhimurium***

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Magister



Oleh :

Rahmani

116100100111005

**PROGRAM PASCASARJANA TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
MINAT ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

TESIS

Pengaruh Penambahan Pandan Wangi dan Kayu Manis sebagai
Flavouring Agent pada Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam terhadap
Aktivitas Sistem Imun pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi
Salmonella typhimurium

Oleh :

Rahmani

Dipertahankan di depan penguji
Pada Tanggal 30 Juli 2013
Dan dinyatakan memenuhi syarat

Komisi Pembimbing,

Ketua Dr. Ir. Tri Dewanti W., M.Kes

Anggota Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP

Anggota

Malang,

Program Pascasarjana
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Brawijaya

Dekan,

Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc.Agr

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia TESIS ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70)

Malang,

Mahasiswa



Nama : Rahmani
NIM : 116100100111005
PS : Teknologi Hasil Pertanian
PPSFTPUB

IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL TESIS :

Pengaruh Penambahan Pandan Wangi dan Kayu Manis sebagai *Flavouring Agent* pada Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*

Nama Mahasiswa : Rahmani
NIM : 116100100111005
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian
Minat : Ilmu dan Teknologi Pangan

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Dr. Ir. Tri Dewanti W., M.Kes
Anggota : Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP.

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji I : Dr.Ir. Elok Zubaidah, MP.
Dosen Penguji II : Dr. Teti Estiasih, STP, MP.

Tanggal Ujian Tesis : 30 Juli 2013

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Amuntai Kec. Amuntai Tengah Kab. Hulu Sungai Utara Kalimantan Selatan pada tanggal 23 Mei 1978 sebagai putra kesepuluh dari sepuluh bersaudara (anak bungsu) dari Ayah yang bernama H.Syamsul Bachri dan Ibu yang bernama Hj.Marawiyah.

Penulis menyelesaikan Sekolah Dasar di SDN Antasari 1 Amuntai selesai pada tahun 1990, kemudian melanjutkan sekolah di SMP Negeri 1 Amuntai dan selesai pada tahun 1993, dan melanjutkan sekolah ke SMA Negeri 1 Amuntai dan selesai pada tahun 1996.

Pada tahun 2000 penulis menyelesaikan pendidikan di Akademi Gizi Banjarmasin, kemudian pada tahun 2006 penulis berhasil menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S-1) di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Selanjutnya pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan pada Pascasarjana di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang dan atas Rahmat Allah SWT berhasil diselesaikan pada bulan Juli 2013.

Rahmani. 116100100111005. Pengaruh Penambahan Pandan Wangi dan Kayu Manis sebagai *Flavouring Agent* pada Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Tesis. Pembimbing : Dr. Ir. Tri Dewanti W., M.Kes. dan Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP

RINGKASAN

Cincau hitam tidak hanya menyegarkan tubuh kita bila diminum dengan es, namun cincau juga memiliki kandungan alami diantaranya mengandung senyawa bioaktif *polifenol*, *oleanolic acid*, *ursolic acid* dan *caffeic acid* yang bersifat antioksidan, antikanker, antimutagenik, antihipertensi, antidiabetes dan *imunomodulator*. Daun pandan wangi dan kayu manis merupakan *Flavouring Agent* alami yang banyak digunakan karena *Flavour* nya disukai selain itu juga bersifat antioksidan. Berdasarkan khasiat cincau hitam serta potensi daun pandan wangi dan kayu manis, maka tidak menutup kemungkinan dapat dimanfaatkan untuk produk pangan fungsional berupa suatu produk yang praktis, higienis, awet serta memiliki cita rasa tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* terhadap karakteristik fisiko-kimia teh instan berbasis cincau hitam dan aktivitas sistem imun (jumlah sel *limfosit* dan *IFN-γ*) mencit yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium*.

Penelitian ini memakai metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), data yang diperoleh diolah dengan menggunakan Analisis Sidik Ragam (*Anova*) kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan (selang kepercayaan 5%) dengan menggunakan *software* SPSS Statistic 16.0. Penelitian ini terbagi dalam dua tahapan, tahap I bertujuan untuk mendapatkan formula teh instan berbasis cincau yang memiliki nilai fisiko-kimia dan organoleptik terbaik, dengan variabel perbandingan teh instan cincau hitam : serbuk daun pandan : serbuk kayu manis (F1=100:0:0; F2=80:20:0; F3=80:0:20; F4=80:10:10; F5=75:12,5:12,5; F6=70:15:15). Uji daya terima organoleptik menggunakan uji fredman dan penentuan perlakuan terbaik menggunakan metode pembobotan. Sedangkan penelitian tahap II bertujuan untuk mengetahui aktivitas sistem imun (sel *limfosit* dan *IFN-γ*) dari formula terbaik pada tahap I terhadap mencit sehat dan mencit sakit (diinfeksi dengan bakteri *Salmonella typhimurium*).

Dari hasil penelitian tahap I terpilih sebagai perlakuan terbaik adalah teh instan berbasis cincau hitam dengan penambahan *Flavouring Agent* pada formula 75% teh instan cincau hitam, 12,5% serbuk daun pandan dan 12,5% serbuk kayu manis. Formula ini memiliki aktivitas antioksidan (IC_{50}) sebesar 145,13 ppm, total fenol sebesar 4,52%, kadar air 6,14%, densitas kampa 0,79 g/ml, daya larut 95,17%, daya serap air 10,08%, kecerahan warna 34,48, dan daya terima organoleptik warna 5,45 (agak menyukai-menyukai), aroma 5,80 (agak menyukai-menyukai), kenampakan 5,20 (agak menyukai-menyukai) dan rasa 4,70 (netral-agak menyukai), serta memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap aktivitas sistem imun mencit (memberikan pengaruh terhadap jumlah sel *limfosit* baik pada kondisi mencit sehat maupun kondisi mencit sakit dan memberikan pengaruh terhadap kadar *IFN-γ* pada kondisi mencit sehat).

Kata Kunci: Cincau Hitam, Pandan Wangi, Kayu Manis, Teh Instan berbasis Cincau Hitam, Aktivitas Sistem Imun (jumlah sel *limfosit* dan *IFN-γ*)

Rahmani. 116100100111005. Effect of Pandan Wangi and Cinnamon addition as a Flavouring Agent in Instant Tea Formulation based on Black Cincau to Immune System Activity of Mice Balb / C that were infected by Salmonella typhimurium. Thesis. Adviser: Dr. Ir. Tri Dewanti W., M.Kes. dan Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP

SUMMARY

Black cincau is not only refresh our bodies when mixed with ice, but it also contains natural bioactive compounds such as polyphenols, oleanolic acid, ursolic acid and caffeic acid that has antioxidants, anticancer, antimutagenic, antihypertensive, antidiabetic and immunomodulatory activity. Fragrant pandan leaves and cinnamon are natural Flavouring agents that widely used not only because of its Flavour but also has antioxidant activity. Based on the efficacy of black cincau and potency of fragrant pandan leaves and cinnamon, it is possible to be used for functional food products in the form of a product that is practical, hygienic, durable and has a high savour.

This study was aimed to determine the effect of the addition of fragrant pandan and cinnamon as a flavouring agent to the physico-chemical characteristics of instant black cincau tea and immune system activity (number of lymphocytes and IFN- γ)-of mice that were infected with *Salmonella typhimurium*. The study used the completely randomized design (CRD) method, the data obtained were processed using analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's test (5% confidence interval) using SPSS Statistics 16.0 software. The research was divided into two phases, the first phase was aimed to get the best instant tea formula based on black cincau that has the best value of physico-chemical and organoleptic. Variable ratio of black cincau instant tea were, pandan leaf powder: Cinnamon powder (F1 = 100:0:0 ; F2 = 80:20:0; F3 = 80:0:20; F4 = 80:10:10; F5 = 75:12,5:12,5; F6 = 70:15:15). Organoleptic acceptability test using Fredman test and weighting method were used to determine the best treatment. Meanwhile, the second phase of this study were aimed to determine the activity of the immune system (lymphocytes and IFN- γ) from the best formula in phase I of the healthy mice and sick mice (infected with the bacterium *Salmonella typhimurium*).

The best treatment is based instant tea with the addition of black grass jelly Flavouring Agent in formula 75% instant tea black grass jelly, pandan leaf powder 12.5% and 12.5% of cinnamon powder. This formula has 145.13 ppm antioxidant activity (IC50), 4.52% total phenol, 6.14% water content, 0.79 g / ml bulk density, 95.17% solubility, 10, 08% water absorption, 34.48 brightness, and 5,45 organoleptic acceptability (somewhat like-like), 5,80 aroma (rather like-like), 5.20 appearance (somewhat like-like) and 4.70 flavour (neutral-rather like). This result also provide significant effect ($\alpha = 5\%$) of mice's immune system activity (affect the number of lymphocytes in both conditions of mice (healthy and sick) and affect the IFN- γ levels in healthy mices).

Keywords: Black cincau, fragrant pandan leaves, cinnamon, instant tea black cincau based, immune system activity (lymphocytes and IFN- γ level)

KATA PENGANTAR

Segala puji Syukur kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tulisan tesis yang berjudul "Pengaruh Penambahan Pandan Wangi dan Kayu Manis sebagai *Flavouring Agent* pada Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*".

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ir. Tri Dewanti W., M.Kes. dan Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP., selaku komisi pembimbing atas kesabaran dan kesediaan meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan, arahan dan ilmu pengetahuan yang bermanfaat kepada penulis.
2. Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP dan Dr. Teti Estiasih, STP, MP. selaku dosen penguji, terima kasih atas segala saran dan masukannya.
3. Kedua orang tua dan saudara-saudaraku serta orang-orang yang tercinta (istri dan anak-anakku) yang selalu menjadi/memberi motivasi dan semangat dengan penuh rasa kasih sayang dalam penyelesaian tesis ini.
4. Bu Asih, mas Agus, teknisi di Laboratorium THP-UB (mas Bekti, mbak Luluk, mas Agus dan mbak Fitri)
5. Teman-teman pascasarjana THP-UB 2011; Kiki', Huda, Asmak, Najmudin, Dinar, Ardian, Mulia, Winarsih, Sugiono, Ina, dan Suburi yang telah bersama-sama menjalani hari-hari selama proses belajar dengan susah, senang bersama.
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut mendukung penyelesaian tesis ini.

Penulis berharap semoga tesis ini dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi semua pihak. Bila terdapat kekurangan dari tesis ini, penulis mohon maaf dan bersedia menerima kritik dan saran.

Malang, 6 September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
RIWAYAT HIDUP	v
RINGKASAN	vi
SUMMARY	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Cincau Hitam.....	4
2.1.1 Morfologi Cincau Hitam	4
2.1.2 Komposisi Kimia Cincau Hitam.....	6
2.1.3 Manfaat Cincau Hitam.....	7
2.1.4 Mekanisme Cincau Hitam sebagai Imunostimulan	8
2.2 Pandan Wangi(<i>Pandanus amaryllifolius Roxb.</i>)	8
2.2.1 Morfologi Pandan Wangi	8
2.2.2 Komposisi Kimia Pandan Wangi.....	10
2.2.3 Manfaat Pandan Wangi.....	10
2.3 Kayu Manis (<i>Cinamomum Burmani</i>)	11
2.3.1 Morfologi Cincau Hitam	11
2.3.2 Komposisi Kimia Cincau Hitam.....	12
2.3.3 Manfaat Cincau Hitam.....	13
2.4 Teh Instan	14

2.5 Dekstrin	15
2.6 Sistim Imun.....	17
2.6.1 Limfosit.....	19
2.6.2 Interferon gamma (IFN- γ).....	20
2.6.3 Immunomodulator	20
2.7 <i>Salmonella</i>	21
2.7.1 Morfologi dan Identifikasi <i>Salmonella typhmuri</i>	21
2.7.2 Antigen dan Virulensi Samonella.....	23
2.7.3 Patogenesis Penyakit dan Respons Imun terhadap <i>Salmonella</i>	25
2.8 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	29
2.8.1 Asal Usul Hewan Mencit.....	29
2.8.2 Anatomi dan Fisiologi Mencit.....	30
2.8.3 Penyakit-penyakit Yang Umum pada Mencit.	31
III. KERANGKA PENELITIAN.....	34
3.1 Kerangka Pikir Penelitian.....	34
3.2 Hipotesis.....	38
3.3 Kerangka Operasional Penelitian.....	39
IV. METODE PENELITIAN.....	40
4.1 Tempat dan Waktu	40
4.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	40
4.2.1 Bahan	40
4.2.2 Alat Penelitian	40
4.3 Pelaksanaan Penelitian	41
4.3.1 Penelitian Tahap I : Pembuatan Teh Instan Cincau Hitam, serbuk <i>Flavouring Agent</i> dari Daun Pandan dan Kayu Manis serta Pembuatan Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam	41
4.3.2 Penelitian Tahap II : Pengujian Teh Instan berbasis Cincau Hitam Perlakuan Terbaik terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Hewan Coba	46
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	49
5.1 Analisa Bahan Pembuat Teh Instan berbasis Cincau Hitam	49
5.2 Analisa Teh Instan berbasis Cincau Hitam	50
5.2.1 Analisa Fisiko-kimia.....	50

5.2.1.1	Total Fenol	50
5.2.1.2	Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀)	51
5.2.1.3	Kadar Air	53
5.2.1.4	Densitas Kamba	54
5.2.1.5	Daya Larut	55
5.2.1.6	Daya Serap Air	57
5.2.1.7	Warna L (kecerahan)	58
5.2.2	Uji Organoleptik.....	60
5.2.2.1	Warna	60
5.2.2.2	Aroma.....	61
5.2.2.3	Rasa.....	63
5.2.2.4	Kenampakan	64
5.2.3	Uji Perlakuan Terbaik	65
5.3	Pengujian Teh Instan Berbasis Cincau Hitam Perlakuan terbaik terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Hewan Coba	67
5.3.1	Perhitungan Jumlah Sel Limfosit	67
5.3.2	Analisa Kadar Interferon Gamma (IFN-γ)	69
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN	71
6.1	Kesimpulan.....	71
6.2	Saran.....	71
	DAFTAR PUSTAKA.....	73
	LAMPIRAN.....	80

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Klasifikasi Tanaman Cincau Hitam	4
2.	Komponen Gizi dalam 100 g Daun Cincau Hitam	6
3.	Klasifikasi Tanaman Pandan Wangi	10
4.	Klasifikasi Tanaman Kayu Manis	12
5.	Nilai-nilai Fisiologi Hewan Mencit	31
6.	Formulasi Teh Instan Berbasis Cincau Hitam	45
7.	Hasil Analisa Bahan Pembuat Teh Instan berbasis Cincau Hitam	49
8.	Nilai Produk (NP) Parameter Fisiko-Kimia dan Organoleptik Teh Instan berbasis Cincau Hitam	66
9.	Karakteristik Fisiko-Kimia dan Organoleptik Perlakuan Terbaik Berdasarkan Nilai Produk (NP) Fisiko-kimia dan Organoleptik Teh Instan berbasis Cincau Hitam	66

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Daun Cincau Hitam (<i>Mesona palustris</i> BL)	5
2.	Daun Pandan Wangi (<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.).....	9
3.	Kayu Manis (<i>Cinamomum Burmani</i>)	13
4.	Letak Sistim Imun	19
5.	<i>Salmonella</i> sp.	21
6.	Koloni <i>Salmonella</i> sp.	22
7.	Respons imun pada mukosa gastrointestinal terhadap infeksi <i>Salmonella</i> Koloni <i>Salmonella</i> sp.	26
8.	Kerangka Konsep Penelitian.....	38
9.	Kerangka Operasional Penelitian.....	39
10.	Pembuatan Teh Instan berbasis Cincau Hitam	42
11.	Pembuatan Serbuk Daun Pandan	43
12.	Pembuatan Serbuk Kayu Manis.....	44
13.	Grafik Rerata Kadar Total Fenol (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	50
14.	Grafik Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Teh Instan berbasis Cincau Hitam	52
15.	Grafik Rerata Kadar Air (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam	53
16.	Grafik Rerata Nilai Densitas Kamba (g/ml) Teh Instan berbasis Cincau Hitam	55
17.	Grafik Rerata Nilai Daya Larut (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam.	56
18.	Grafik Rerata Nilai Daya Serap Air (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	58
19.	Grafik Rerata Nilai Warna L (Kecerahan) Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	59
20.	Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Warna Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	61
21.	Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Aroma Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	62
22.	Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Rasa Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	63

23.	Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Kenampakan Teh Instan berbasis Cincau Hitam	65
24.	Grafik Rerata Jumlah Sel Limfosit (sel/ml) pada Organ Limpa Mencit .	68
25.	Grafik Rerata Kadar IFN- γ (pg/ml) pada Serum Mencit	70
26.	Proses Produksi Teh Instan berbasis Cincau Hitam	106
27.	Perlakuan Pada Hewan Coba Mencit	107

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Halaman
1.	Prosedur Analisa Fisiko-kimia dan Organoleptik.....	80
2.	Lembar Uji Organoleptik.....	86
3.	Lembar Penilaian Perlakuan Terbaik.....	87
4.	Data Analisa Ragam Total Fenol Teh Instan berbasis Cincau Hitam .	88
5.	Data Analisa Ragam Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) Teh Instan berbasis Cincau Hitam	89
6.	Data Analisa Ragam Kadar Air Teh Instan berbasis Cincau Hitam....	90
7.	Data Analisa Ragam Densitas Kamba Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	91
8.	Data Analisa Ragam Daya Larut Teh Instan berbasis Cincau Hitam .	92
9.	Data Analisa Ragam Daya Serap Air Teh Instan berbasis Cincau Hitam	93
10.	Data Analisa Ragam Warna L Teh Instan berbasis Cincau Hitam	94
11.	Data dan Analisa Friedman Organoleptik Warna Teh Instan berbasis Cincau Hitam	95
12.	Data dan Analisa Friedman Organoleptik Aroma Teh Instan berbasis Cincau Hitam	96
13.	Data dan Analisa Friedman Organoleptik Rasa Teh Instan berbasis Cincau Hitam.....	97
14.	Data dan Analisa Friedman Organoleptik Kenampakan Teh Instan berbasis Cincau Hitam	98
15.	Data Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kepentingan Fisik-Kimia dan Organoleptik Teh Instan berbasis Cincau Hitam	99
16.	Nilai Efektivitas Fisik-Kimia dan Organoleptik.....	100
17.	Data Pemilihan Perlakuan Terbaik Parameter Fisik – Kimia dan Organoleptik.....	101
18.	Data Analisa Ragam Jumlah Sel Limfosit (sel/ml) pada Organ Limpa Mencit	102
19.	Data Analisa Ragam kadar IFN- γ (pg/ml) pada Serum Mencit.....	103
20.	Keterangan Kelaikan Etik	104
21.	Tabel Konversi Dosis antara Jenis Hewan dengan Manusia (Laurence and Bacharach, 1964)	105

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia memiliki sistem pertahanan tubuh yang lengkap untuk menghadapi invasi organisme patogen. Sistem pertahanan tubuh atau sistem imun pada dasarnya dibagi menjadi dua yaitu sistem imun non spesifik dan spesifik. Upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya unsur-unsur patogen diantaranya adalah dengan adanya *proliferasi* dan *diferensiasi limfosit* sehingga menjadi sel yang mampu bereaksi dengan unsur-unsur patogen, menghancurkan unsur-unsur patogen dengan proses *fagositosis makrofag*. Peranan mediator-mediator yang disebut sitokin dalam mengendalikan respons imun diantaranya adalah *interferon (IFN)* yang diproduksi oleh sel T dan *immunoglobulin G (Ig G)* yang diproduksi oleh sel B (Baratawidjaja, 2010).

Dengan mempelajari mekanisme pertahanan tubuh tersebut maka manusia selalu berusaha memikirkan berbagai cara untuk meningkatkan respon imun. Salah satunya dengan cara memberikan suatu stimulus atau imunostimulan untuk mengatasi beberapa penyakit infeksi atau keganasan. Saat ini upaya yang sedang dilakukan manusia dalam rangka memenuhi tujuan tersebut adalah dengan pembuatan minuman multifungsional (Baratawidjaja, 2010).

Cincau hitam atau Cao atau *Mesona palustris BL* tidak hanya menyegarkan tubuh kita bila diminum dengan es, namun cincau juga memiliki kandungan alami untuk mengobati kanker. Penelitian Yen dkk. (2000) menunjukkan bahwa komponen aktif polifenol yang terdapat pada cincau hitam mampu *mencegah kerusakan DNA pada limfosit manusia* yang terpapar radikal bebas berupa hidrogen peroksida dan iradiasi sinar UV. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Lai dkk (2001) serta Hung dan Yen (2002) yang menunjukkan bahwa ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat akibat adanya senyawa-senyawa fenol. Menurut Widyaningsih (2011), dalam penelitiannya membuktikan bahwa ekstrak air cincau hitam (*Mesona palustris BL*) dapat meningkatkan *interferon-γ* dan komponen *immune surveillance* yaitu sel CD 8+, sel NK dan *makrofag* pada mencit sehat maupun yang diinduksi benzo(a)pirena.

Daun pandan wangi biasa dipakai dalam pembuatan kue atau masakan lain seperti kolak dan bubur kacang hijau. Sewaktu menanak nasi, daun pandan

juga kerap diletakkan di sela-sela nasi dengan maksud supaya nasi menjadi beraroma harum (Van Wyk, 2005). Daun pandan wangi mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna (Sugati dan Jhony, 1991). Menurut Sukandar dkk. (2008) ekstrak etil asetat daun pandan wangi bersifat toksik terhadap benur udang *Artemia salina* Leach. menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta berpotensi sebagai antikanker dan antidiabetes.

Kayu manis adalah salah satu jenis rempah-rempah yang banyak digunakan sebagai bahan pemberi aroma dan citarasa dalam makanan, minuman, dan bahan aditif pada pembuatan parfum serta obat-obatan (Sundari, 2001). Menurut Prasetyaningrum (2012), dalam industri pangan, minyak atsiri dan oleoresin kayu manis dimanfaatkan sebagai peningkat cita rasa atau aroma. Kandungan kimia kayu manis terdiri dari minyak atsiri, safrole, sinamadehide, eugenol, tanin, damar, kalsium oksanat, dan zat penyamak. Khasiat dari kayu manis, dapat mengobati tekanan darah tinggi, batuk, asam urat, dan diare (Qauliyah, 2010). Menurut Azima (2004) dalam Astawan (2009), kulit kayu manis tersusun atas senyawa sinamaldehyde, turunan dari senyawa fenol yang dapat mencegah aterosklerosis, serta kayu manis diketahui mengandung senyawa antioksidan yang efektif untuk mencegah kanker.

Berdasarkan khasiat cincau hitam serta potensi daun pandan wangi dan kayu manis, maka tidak menutup kemungkinan dapat dimanfaatkan untuk produk pangan fungsional berupa suatu produk yang lebih praktis, higienis, dan awet. Dimana pada saat ini terdapat kecenderungan konsumen untuk mengkonsumsi produk yang memiliki cita rasa tinggi, mudah disimpan, dibawa dan disajikan, sehingga perlu dikembangkan suatu produk minuman multi fungsional berbasis cincau hitam yang berflavour, inovatif, lebih praktis dan higienis yaitu teh instan.

1.2 Perumusan Masalah

Permasalahan yang dibahas dalam penelitian ini antara lain:

- a. Bagaimana pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* terhadap karakteristik teh instan berbasis cincau hitam.
- b. Bagaimana pengaruh formula teh instan berbasis cincau hitam (*Mesona palustris* BL) dari perlakuan terbaik terhadap aktivitas sistem imun dengan indikator jumlah sel *limfosit* dan *IFN-γ*.

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* terhadap karakteristik formula teh instan berbasis cincau hitam.
- b. Menguji pengaruh formula teh instan berbasis cincau hitam (*Mesona palustris BL*) dari perlakuan terbaik terhadap aktivitas sistem imun dengan indikator jumlah sel *limfosit* dan *IFN- γ* .

1.4 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi ilmiah tentang formula dan potensi teh instan berbasis cincau hitam (*Mesona palustris BL*) dengan *Flavouring Agent* pandan wangi dan kayu manis sebagai pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan guna meningkatkan sistem imun tubuh.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cincau Hitam

2.1.1 Morfologi Cincau Hitam

Kita mengenal dua jenis cincau, yaitu cincau hijau dan cincau hitam. Keduanya berbeda dalam hal warna, cita-rasa, penampakan, bahan baku, dan cara pembuatan. Cincau hijau dibuat dari daun cincau (*Premna oblongifolia* Merr) tanpa proses pemanasan sedangkan cincau hitam dibuat dari seluruh bagian tanaman janggolan dengan bantuan proses pemanasan dan penambahan pati serta abu. Kedua cincau tersebut rasanya enak, kenyal, dan hampir menyerupai agar-agar (Anonymous, 2012^a).

Cincau hitam (*Mesona palustris*) yang sering dikenal sebagai janggolan merupakan salah satu tanaman yang termasuk dalam suku *Labiata*. Tanaman ini berbentuk perdu tingginya antara 30-60 cm dan tumbuh baik di daerah yang mempunyai ketinggian 75-2300 meter di atas permukaan laut, serta dapat tumbuh baik pada musim kemarau maupun penghujan. Di Indonesia tanaman cincau hitam banyak terdapat di Sumatera Utara, Jawa, Bali, Lombok, Sumbawa dan Sulawesi (Anonymous, 2012^a).

Klasifikasi tanaman cincau hitam dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Klasifikasi Tanaman Cincau Hitam

Klasifikasi	
Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Super Divisi	Spermatophyta
Divisi	Magniliophyta
Kelas	Magnoliopsida
Sub Kelas	Asteridae
Ordo	Lamiales
Famili	Lamiaceae
Genus	Mesona
Spesies	<i>Mesona palustris</i> BL

(Anonymous, 2012^a)

Tanaman cincau hitam tumbuh menjalar di permukaan tanah tetapi ada pula jenis yang tumbuh agak tegak. Batangnya kecil dan ramping dengan percabangan tumbuh di bagian ujung batang. Daunnya berbentuk lonjong dengan ujung lancip atau tumpul. Bunganya termasuk bunga majemuk seperti

bunga kemangi dengan warna merah muda atau putih keunguan (Widyaningsih, 2007). Cincau hitam memiliki batang beruas, berbulu halus dengan bentuk menyerupai segi empat, kebanyakan bercabang pada bagian dasarnya dan berwarna agak kemerahan. Daun cincau hitam berwarna hijau, lonjong, tipis lemas, ujungnya runcing, pangkal tepi daun bergerigi dan memiliki bulu halus. Letak daun saling berhadapan dan berselang seling dengan daun berikutnya (Pitojo dan Zumati, 2005). Bentuk tanaman cincau hitam (*Mesona palustris* BL) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) (Yohana dan Fahriyadi, 2012)

Bagian tanaman cincau hitam yang mempunyai kegunaan adalah bagian daun dan bagian batangnya yang dapat menghasilkan ekstrak gel cincau yang lebih banyak (Widyaningsih, 2007). Komponen polisakarida yang paling banyak ada pada bagian batang dan daunnya, sehingga dalam proses pengolahannya digunakan bagian daun dan batang tanaman cincau hitam (Pitojo dan Zumati, 2005).

Tanaman cincau hitam dapat dibudidayakan dengan cara generatif maupun vegetatif. Cara generatifnya adalah dengan menggunakan biji sedangkan vegetatifnya menggunakan stek batang, tunas akar dan cara merunduk (Sunanto, 1995). Proses pembibitan secara generatif tingkat keberhasilannya kecambahnya hanya 1-2 % saja dengan waktu 12 bulan, hal ini menyebabkan pembibitan cara ini jarang dilakukan (Sunanto, 1995). Pembudidayaan yang sering dilakukan adalah dengan cara stek batang, tunas akar dan merunduk. Pembudidayaan dengan cara vegetatif ini tidak membutuhkan waktu yang terlalu lama dan tingkat keberhasilannya juga tinggi, selain itu tanaman yang dihasilkan memiliki sifat yang sama dengan induknya.

Tanaman cincau hitam mudah dibudidayakan, terutama di daerah dataran menengah hingga tinggi. Tanaman tersebut umumnya cocok ditanam ditegalan,

pekarangan, dan ladang, secara monokultur atau tumpang sari dengan tanaman lain. Dalam rangka konservasi lahan, tanaman tersebut dapat ditanam di galengan teras atau ditempat yang berlereng. Hal ini didukung oleh sifat perakaran yang lebat dan kuat mengikat tanah (Pitojo dan Zumiaty, 2005).

2.1.2 Komposisi Kimia Cincau Hitam

Pada dasarnya daun cincau hitam mengandung air dan bahan-bahan selain air yang sering disebut bahan-bahan kering. Komponen gizi pada daun cincau hitam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Komponen Gizi dalam 100 g Daun Cincau Hitam

Komponen Gizi Daun Cincau Hitam	
Energi (kkal)	122
Protein (g)	6
Lemak (g)	1
Karbohidrat (g)	26
Kalsium (mg)	100
Fosfor (mg)	100
Besi (mg)	3,3
Vitamin A (SI)	10,750
Vitamin B1 (mg)	80
Vitamin C (mg)	17
Air (g)	66,0
Bahan yang dapat dicerna (%)	40

Sumber : Direktorat Gizi, Depkes (1992) dalam Widyaningsih (2007)

Daun janggolan (bahan utama cincau hitam) mengandung nilai gizi yang cukup baik per 100 gramnya, terutama jika ditinjau dari kandungan mineral dan vitaminnya. Namun, cincau hitam (produk jadi) merupakan bahan makanan yang sangat minim kandungan gizinya. Kandungan terbesar adalah air, hampir mencapai 98 persen. Mengingat dalam proses pembuatannya ditambahkan mineral dan pati, cincau hitam mengandung sejumlah mineral dan karbohidrat dalam jumlah lumayan. Dengan alasan tersebut, banyak orang yang menggunakan cincau hitam sebagai makanan rendah energi untuk tujuan diet, baik karena alasan kesehatan maupun untuk keperluan melangsingkan tubuh. Cincau dapat dimakan dalam jumlah banyak tanpa perlu khawatir menjadi gemuk.

2.1.3 Manfaat Cincau Hitam

Cincau Hitam selain berperan sebagai *dessert*, juga bermanfaat untuk kesehatan. Khasiat tersebut terkait erat dengan kandungan serat larut air (*soluble dietary fiber*) yang terdapat di dalamnya. Di dalam tubuh, serat larut air dapat mengikat kadar gula dan lemak/kolesterol, sehingga bermanfaat untuk mencegah penyakit diabetes melitus, jantung, stroke, dan penyakit kardiovaskular lainnya (Ahfan, 2009)

Cincau sangat baik dikonsumsi oleh semua kalangan, bahan ini sangat kaya mineral terutama kalsium dan fosfor. Cincau juga baik dikonsumsi bagi orang yang sedang menjalani diet karena rendah kalori namun tinggi serat. Cincau dipercaya mampu meredakan panas dalam, sembelit, perut kembung, demam dan diare. Sedangkan serat bermanfaat untuk membersihkan organ pencernaan dari zat karsinogen penyebab kanker (Astawan, 2011).

Cincau hitam cukup tinggi kandungan serat pangannya. Dalam usus halus serat pangan akan menyerap dan mengikat asam-asam empedu dan selanjutnya akan dikeluarkan dari tubuh bersama-sama dengan tinja. Berkurangnya asam empedu tersebut akan menyebabkan hati mensintesis asam empedu lagi, sehingga kolesterol yang merupakan bahan dasar sintesis asam empedu tersebut, jumlahnya akan berkurang, baik kolesterol dalam plasma darah maupun dalam jaringan. (Astawan, 2011).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak *Hsian tsao* sejenis cincau hitam di China diantaranya mengandung senyawa bioaktif *polifenol*, *oleanolic acid*, *ursolic acid* dan *caffeic acid* yang bersifat *antioksidan*, *antikanker*, *antimutagenik*, *antihipertensi*, *antidiabetes* dan *imunomodulator*. *Imunomodulator* membuat sistem imun tubuh lebih aktif dalam menjalankan fungsinya. Senyawa bioaktif pada cincau hitam dapat bersifat sebagai *imunomodulator* karena mampu meningkatkan *proliferasi sel limfosit* (Widyaningsih, 2011).

Di Cina dan Taiwan, cincau hitam sangat populer untuk digunakan sebagai obat penurun tekanan darah dan obat diuretik. Di Korea Selatan, cincau hitam yang dicampur dengan rempah-rempah telah dipasarkan sebagai makanan kesehatan. Penelitian Yen dkk. (2000) menunjukkan bahwa komponen aktif polifenol yang terdapat pada cincau hitam mampu *mencegah kerusakan DNA pada limfosit manusia* yang terpapar radikal bebas berupa hidrogen peroksida dan iradiasi sinar UV. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Lai dkk (2001) serta

Hung dan Yen (2002) yang menunjukkan bahwa ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat akibat adanya senyawa-senyawa fenol.

Pada konsentrasi yang sama, yaitu 50 mg/ml, diketahui bahwa ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan alfatokoferol (vitamin E), yaitu masing-masing sebesar 98,9 persen dan 78 persen. Selama ini kita telah mengenal vitamin E sebagai antioksidan yang cukup ampuh. Tanpa disangka, ternyata ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dari vitamin E. Data tersebut tentu saja sangat menggembarakan bagi penggemar cincau hitam (Tommy, 2009).

2.1.4 Mekanisme Cincau Hitam sebagai Imunostimulan

Menurut Widyaningsih (2011), secara biokimia aktivitas imunomodulator yang ditimbulkan oleh ekstrak air cincau hitam karena kompleks fenol atau senyawa bioaktif lainnya dengan protein atau masing-masing komponen tersebut yang berperan sebagai antigen atau mitogen dan mampu dikenal oleh reseptor sel B maupun sel T (T cell receptor-TCR) melalui ikatan hidrogen, sedangkan pada sel B dapat terikat pada reseptor permukaannya (Ig-M). Peningkatan antigen pada reseptor permukaan sel T bersama interleukin 1 (IL-1) dari APC (Antigen Presenting Cell) dapat mengaktifasi G-protein yang kemudian memproduksi fosfolipase C. Enzim ini menghidrolisis fosfatidil inositol trifosfat (PIP3) menjadi produk reaktif diasilgliserol (DAG) dan inositol trifosfat (IP3). Reaksi tersebut berlangsung dalam membran plasma. Inositol trifosfat (IP3) kemudian menstimulasi pelepasan Ca^{2+} ke dalam sitoplasma sehingga konsentrasi Ca^{2+} meningkat. Peningkatan Ca^{2+} ini berperan penting dalam menstimulasi kerja enzim protein kinase C dan 5-lipoxygenase. Protein kinase C menstimulasi produksi interleukin-2 (IL-2) yang kemudian mengaktifasi sel B maupun sel T untuk berproliferasi (Rott, 1991). Disamping mengaktifasi sel B maupun sel T, IL-2 juga mampu merangsang produksi beberapa jenis limfokin antara lain IFN- γ , interferon serta meningkatkan efek sitotoksik dari sel T sitotoksik (CD8^+), produksi antibodi dan aktivitas sel NK (Kresno, 2001; Abbas *et al.*, 2005; Baratawijaya dan Ringanis, 2010).

2.2 Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

2.2.1 Morfologi Pandan Wangi

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) atau biasa disebut pandan saja adalah jenis tumbuhan monokotil dari famili Pandanaceae. Daunnya

merupakan komponen penting dalam tradisi masakan Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara lainnya. Di beberapa daerah, tanaman ini dikenal dengan berbagai nama antara lain: Pandan Rampe, Pandan Wangi (Jawa); Seuke Bangu, Pandan Jau, Pandan Bebau, Pandan Rempai (Sumatera); Pondang, Pandan, Ponda, Pondago (Sulawesi); Kelamoni, Haomoni, Kekermoni, Ormon Foni, Pondak, Pondaki, Pudaka (Maluku); Pandan Arrum (Bali), Bonak (Nusa Tenggara) (Ery, 2009)

Pandan wangi tumbuh di daerah tropis dan banyak ditanam di halaman atau di kebun. Pandan kadang tumbuh liar di tepi sungai, tepi rawa, dan di tempat-tempat yang agak lembap, tumbuh subur dari daerah pantai sampai daerah dengan ketinggian 500 m dpl. Perdu tahunan, tinggi 1-2 m. Batang bulat dengan bekas duduk daun, bercabang, menjalar, akar tunjang keluar di sekitar pangkal batang dan cabang. Daun tunggal, duduk, dengan pangkal memeluk batang, tersusun berbaris tiga dalam garis spiral. Helai daun berbentuk pita, tipis, licin, ujung runcing, tepi rata, bertulang sejajar, panjang 40 - 80 cm, lebar 3 - 5 cm, berduri tempel pada ibu tulang daun permukaan bawah bagian ujung-ujungnya, warna hijau. Bunga majemuk, bentuk bongkol, warnanya putih. Buahnya buah batu, menggantung, bentuk bola, diameter 4 - 7,5 cm, dinding buah berambut, warnanya jingga (Anonymous, 2005).



Gambar 2. Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)(Anonymous, 2012^b)

Suku Pandanaceae mempunyai marga antara 200 hingga 300 jenis, terbagi dalam tiga marga utama, yaitu Pandanus, Freycinetia, dan Sararanga, yang tersebar di daerah tropika, di tepi-tepi pantai dan sungai-sungai (Tjitrosoepomo, 2002).

Klasifikasi tanaman pandan wangi dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini:

Tabel 3. Klasifikasi Tanaman Pandan Wangi

Klasifikasi	
Kingdom	<i>Plantae</i>
Divis	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	<i>Liliopsida</i>
Ordo	<i>Pandanales</i>
Famili	<i>Pandanaceae</i>
Genus	<i>Pandanus</i>
Spesies	<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.

(Ery, 2009)

2.2.2 Komposisi Kimia Pandan Wangi

Daun pandan wangi mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna (Sugati dan Jhony, 1991). Guzman dan Siemosna (1999) mengemukakan bahwa daun pandan wangi sedikit mengandung minyak atsiri (beberapa ppm), terdiri dari 6-42% hidrokarbon seskuiterpen dan 6% merupakan linalool hanya sebagai monoterpen. Komposisi utama yang menyebabkan aroma pada pandan wangi tidak diketahui dengan pasti. Kemungkinan senyawa utama penyusun aroma pada daun pandan wangi adalah 2-asetil-1-pirolin (2AP) (Buttery, 1983).

Sukandar dkk. (2007) melaporkan tumbuhan pandan wangi menghasilkan minyak atsiri yang memiliki komponen kimia 3-alil 6- metoksi fenol, 3-metil 2 (5H) furanon, dietil ester 1,2-benzenadikarboksilat, dan 1,2,3-propanetril ester asam dodekanoat. Distilat daun pandan wangi dapat mengendalikan hama kutu beras (*Sitophylus oyzae* L.).

Ekstrak etil asetat daun pandan wangi mengandung senyawa asam lemak dan turunannya (asam palmitat, metil linolenat, asam 9,12-oktadienoat, asam palmitat betamonogliderida, asam linolenat dan etil linolenat), terpenoid (3,7,11,15-tetrametil-2-heksadekena, neofitadiena, fitol, skualena dan γ -cisseskuisiklogeraniol) dan steroid (4 α , 5 α -kolestan 4,5-epoksi, 3,5-dedihidro stigmastan-6,22-dien, stigmastan-3,5-dien, kampesterol, stigmastan- 5,22-dien-3-ol dan γ -sitosterol).

2.2.3 Manfaat Pandan Wangi

Khasiat pandan wangi terutama pada daunnya. Berdasarkan beberapa uji preklinik diketahui bahwa daun pandan wangi memiliki khasiat sedatif – hipnotik. Daun pandan wangi juga merupakan komponen cukup penting dalam tradisi

boga Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara lainnya sebagai pewangi makanan karena aroma yang dihasilkannya. Selain sebagai pengharum kue, daun pandan juga dipakai sebagai sumber warna hijau bagi makanan, sebagai komponen hiasan penyajian makanan, dan juga sebagai bagian dalam rangkaian bunga di pesta perkawinan untuk mengharumkan ruangan. Pandan wangi selain sebagai rempah-rempah juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan minyak wangi. Irisan daun pandan muda dicampur bunga mawar, melati, cempaka dan kenanga, sering diselipkan di sanggul supaya rambut menjadi harum, atau diletakkan di antara pakaian dalam lemari (Ery, 2009).

Daun pandan biasa dipakai dalam pembuatan kue atau masakan lain seperti kolak dan bubur kacang hijau. Sewaktu menanak nasi, daun pandan juga kerap diletakkan di sela-sela nasi dengan maksud supaya nasi menjadi beraroma harum (Van Wyk, 2005).

Selain itu juga berkhasiat untuk menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, rambut rontok, lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah, serta pegal linu (Dalimartha, 2002). Menurut Sukandar dkk. (2008) bahwa ekstrak etil asetat dari pandan wangi bersifat toksik terhadap benur udang *Artemia salina* Leach. menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta berpotensi sebagai antikanker dan antidiabetes.

2.3 Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*)

2.3.1 Morfologi Kayu Manis

Merupakan spesies yang berasal dari Family *Lauraceae* dan Genus *Cinnamomum*. Dalam Bahasa Inggris Sering dikenal dengan nama *Cinnamomum tree*. Biasanya disebut dengan padang cassia. Sedangkan dalam bahasa Indonesia biasa disebut kayu manis. Dalam bahasa Jawa biasa disebut dengan "kaneel" Jawa. Penyebaran *Cinnamomum burmannii* di Indonesia banyak terdapat di daerah Sumatra, khususnya di daerah Sumatra Barat dan Kerinci. Nama daerahnya yaitu di Sumatra : holim, holim manis, modang siak-siak (Batak), kanigar, kayu manis (Melayu), madang kulit manih (Minangkabau). Jawa Huru mentek, kiamis (Sunda), kanyengar (Kangean). Kesingar (Nusa Tenggara), kecingar, cingar (Bali), onte (Sasak), kaninggu (Sumba), Puu ndinga (Flores) (Anonymous, 2010).

Dikenal 2 varietas, varietas pertama yang berdaun muda berwarna merah pekat dan varietas kedua berdaun hijau ungu. Varietas pertama terdiri dari 2 tipe, ialah tipe pucuk merah tua dan tipe pucuk merah muda. Varietas yang banyak

ditanam di daerah pusat produksi di Sumatra Barat dan Kerinci adalah varietas pertama. Varietas kedua hanya didapat dalam jumlah populasi yang kecil. Kayu manis pucuk merah mempunyai kualitas yang lebih baik, tetapi produksinya lebih rendah daripada kayu manis yang berpucuk hijau (Anonymous, 2010).

Cinnamomum memiliki akar tunggang dan batang yang kuat dan keras, berkayu dan bercabang. Berbentuk pohon dengan tinggi 6-12 m. Kadang pula mencapai 15 m. Ranting tua gundul. Kulit dan daun kalau diremas berbau kayu manis yang kuat. Dimana semua bagian memiliki bau khas aromatik kayu manis. Daunnya merupakan daun tunggal (kadang-kadang bertulang melengkung) yang duduknya tersebar, kadang-kadang berhadapan, tidak mempunyai penumpu. Daun berpenulangan 3 ; panjang tangkai daun 0.5 cm sampai 1.5 cm. Pada prosesnya, daun berlawanan atau berganti warnanya. Awalnya berwarna merah muda kemudian berwarna hijau muda di atas. Daunnya berbentuk bulat telur atau elips memanjang dengan ujung membulat atau tumpul meruncing, 6-15 kali 4-7 cm, seperti kulit kuat (Anonymous, 2010).

Klasifikasi tanaman kayu manis dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah ini:

Tabel 4. Klasifikasi Tanaman Kayu Manis

Klasifikasi	
Kingdom	Plantae
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	<i>Spermatophyta</i>
Divisi	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	<i>Magnoliidae</i>
Ordo	<i>Lurales</i>
Famili	<i>Lauraceae</i>
Genus	<i>Cinnamomum</i>
Spesies	<i>Cinnamomum burmannii</i>

Anonymous, 2010

2.3.2 Komposisi Kimia Kayu Manis

Kandungan kimia kayu manis terdiri dari minyak atsiri, safrole, sinamadehide, eugenol, tanin, damar, kalsium oksanat, dan zat penyamak. Minyak astiri akhir-akhir ini menarik perhatian dunia, hal ini disebabkan minyak atsiri dari beberapa tumbuhan bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur sehingga dapat dipergunakan sebagai bahan pengawet pada makanan dan sebagai antibiotik alami (Qauliyah, 2010).



Gambar 3. Kayu Manis (*Cinnamomum Burmani*) (Rafenska, 2012)

Minyak atsiri adalah *essensial oil* yang dihasilkan dari batang dari *Cinnamomum burmanii*. Pada dasarnya minyak yang ada di alam dapat dibagi menjadi tiga golongan, yaitu : mineral oil, minyak nabati dan hewani yang dapat dimakan, serta minyak atsiri. Minyak atsiri dikenal juga dengan nama eteris atau volatile oil yang dihasilkan oleh tanaman. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa yang tajam, berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya, dan umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Dalam bidang industri, minyak atsiri digunakan untuk pembuatan kosmetik, parfum, antiseptik, obat-obatan, *Flavouring Agent* dalam makanan atau minuman serta sebagai pencampur rokok kretek (Qauliyah, 2010).

Manfaat minyak atsiri untuk kesehatan seperti antibakteri, antidepresi, antiseptic, antispasmodic, antiinflammatory, deodorant, diuretic, febrifuge, antivirus, pembasmi serangga, obat sakit perut, stimulant, tonic dan vermifuge (Qauliyah, 2010).

2.3.3 Manfaat Kayu Manis

Kayu manis adalah salah satu jenis rempah-rempah yang banyak digunakan sebagai bahan pemberi aroma dan citarasa dalam makanan, minuman, dan bahan aditif pada pembuatan parfum serta obat-obatan (Sundari, 2001). Menurut Prasetyaningrum (2012), dalam industri pangan, minyak atsiri dan oleoresin kayu manis dimanfaatkan sebagai peningkat cita rasa atau aroma. Pemakaian kulit kayu manis dapat dilakukan dalam bentuk asli (bubuk), minyak atsiri, atau oleoresin (Astawan, 2009). Secara tradisional tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmani*) sering digunakan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia. Khasiat dari kayu manis, dapat mengobati tekanan darah tinggi, batuk, asam urat, dan diare (Qauliyah, 2010).

Penelitian Fauzan Azima (2004) dalam Astawan (2009) menyatakan bahwa ekstrak kulit pohon kayu manis efektif untuk menghambat pembentukan Low Density Lipoprotein (LDL = kolesterol jahat) di dalam darah. Senyawa yang sangat bermanfaat pada ekstrak kayu manis adalah tanin, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Keempatnya berperan sebagai anti penggumpalan sel darah merah, antioksidan, dan antihiperkolesterolemia (penurun kolesterol). Menurut Azima (2004) dalam Astawan (2009), kulit kayu manis tersusun atas senyawa sinamaldehyde, turunan dari senyawa fenol. Di dunia kedokteran, senyawa sinamaldehyd diketahui memiliki sifat antiagregasi platelet (kolesterol yang menempel di pembuluh darah). Agregasi (pengumpulan) platelet menyebabkan terjadinya aterosklerosis. Selain dapat mencegah aterosklerosis, kayu manis diketahui mengandung senyawa antioksidan yang efektif untuk mencegah kanker. Kekuatan antioksidan kayu manis yang diekstrak dengan etanol ternyata lebih baik dibandingkan dengan BHT (antioksidan sintetis) dan tokoferol (antioksidan alami), pada konsentrasi sama. Senyawa fitokimia yang berperan sebagai antioksidan pada kayu manis adalah tanin dan flavonoid (Astawan, 2009)

2.4 Teh Instan

Teh instan merupakan hasil olahan teh yang bertujuan untuk menyederhanakan proses pembuatan seduhan teh. Selain itu pembuatan bentuk ini juga dapat meningkatkan nilai teh mutu rendah yang dihasilkan dari proses pembuatan teh hitam yang tidak mungkin di ekspor, dan merupakan hasil sampingan yang murah dipasaran lokal. Menurut Willson and Clifford (1992), teh instan dibuat dari konsentrat ekstrak teh yang dikeringkan. Tahapan pembuatannya melalui proses seleksi bahan baku, ekstraksi, *aroma stripping*, *cream processing*, pemekatan dan pengeringan.

Menurut Varnam dan Sutherland (1994) teh instan mulai dibuat pada akhir abad 19 tetapi produksi skala besarnya baru dilakukan setelah dikembangkannya alat pengering semprot (*spray dryer*) yang mampu mengeringkan konsentrat teh tanpa merusak kualitas organoleptik secara signifikan. Varnam dan Sutherland (1994) menambahkan, ekstraksi merupakan tahap yang paling penting dalam pembuatan teh instan Pada tahap ini ekstraksi dilakukan dengan menggunakan air panas pada suhu sekitar 80-90°C, dengan sistem kontinyu.

Setelah tahap ekstraksi maka dilakukan proses pemisahan aroma (*aroma stripping*) yang melibatkan inert gas seperti nitrogen. Tujuan dari pemisahan aroma ini adalah untuk menjaga kualitas the instan yang dihasilkan karena efek pengolahan yang membuat aroma menjadi menyimpang. Pada tahapan akhir, komponen aroma akan ditambahkan kembali pada konsentrat ekstrak.

Tahap ketiga adalah penghilangan krim (*tea cream processing*) yang bertujuan untuk menghilangkan krim yang terbentuk pada ekstrak teh karena adanya proses pendinginan, sehingga dapat membuat penampakan yang kurang diterima oleh konsumen. Tahap keempat adalah pemekatan, dimana ekstrak teh tadi dipekatkan dengan menggunakan evaporator dalam keadaan vakum untuk mencegah terjadinya kerusakan akibat panas (Armand, 2007).

Tahap akhir adalah pengeringan dengan menggunakan pengering semprot. Pada tahap ini kehilangan aroma akibat suhu panas dapat dikurangi dengan memekatkan teh hingga memiliki konsentrasi padatan yang cukup tinggi sehingga waktu pengeringan akan semakin singkat. Selain itu, kerusakan komponen bioaktifnya pun dapat diminimalkan karena proses pengeringannya singkat dan bahan tidak kontak langsung dengan medium pemanas dalam waktu yang lama (Armand, 2007).

2.5 Dekstrin

Dekstrin adalah karbohidrat yang dibentuk selama hidrolisis pati menjadi gula oleh panas, asam dan atau enzim. Maltosa, sukrosa dan laktosa adalah disakarida yang memiliki rumus empiris sama ($C_{12}H_{22}O_{11}$) tetapi berbeda dalam struktur. Dekstrin dan pati memiliki rumus umum yang sama, $- [C_x(H_2O)_y]_n -$ ($y = x - 1$), yang mana unit glukosa bersatu dengan yang lainnya membentuk rantai (polisakarida) tetapi dekstrin memiliki ukuran lebih kecil dan kurang kompleks dibandingkan pati. Dekstrin larut dalam air tetapi dapat diendapkan dengan alkohol (Anonymous, 2008).

Dekstrin memiliki sifat seperti pati. Beberapa dekstrin bereaksi dengan iodine memberikan warna biru dan larut dalam alkohol 25% (disebut amilodekstrin) sedang yang lainnya berwarna coklat-kemerahan dan larut dalam alkohol 55% (disebut eritrodekstrin) dan yang lainnya tidak membentuk warna dengan iodine serta larut dalam alkohol 70 (disebut akhrodekstrin), yang juga diidentifikasi sebagai dekstroza ekuivalen (DE). DE yang tinggi menunjukkan adanya depolimerisasi pati yang besar. Maltodekstrin adalah produk dengan DE rendah (Anonymous, 2008).

Dekstrin biasanya dibentuk melalui dua tahap proses:

1. Tahap Hidrolisis.

Pada tahap pertama asam dan air ditambahkan dalam granula pati kering yang akan memecah polimer pati dalam reaksi hidrolisis dan molekul air ditambahkan ke dalam polimer pati. Sebagai hasil hidrolisis maka viskositas pati akan berkurang. Derajat hidrolisis tergantung pada jumlah asam yang ditambahkan dan lamanya waktu pencampuran dengan pati.

2. Tahap Kondensasi.

Dalam tahap kedua pati yang dihidrolisis dikeringkan dengan panas dan vakum sampai kelembabapn di bawah 3%. Pada saat pengeringan mencapai level ini maka hidrolisis dihentikan dan air dibebaskan dari polimer pati. Viskositas pati akan meningkat selama proses kondensasi ini. Kemudian terjadi transglukosidasi atau dekstrinisasi yang merupakan pembentukan kembali glukosa dalam ikatan glukosa dengan dan antar polimer. Ikatan alfa 1-4 dan alfa 1-6 dapat bertukar. Selama tmasglukosidasi viskositas desktrin secara substansi tidak berubah.

Dekstrin kemudian didinginkan dan pH dekstrin dapat dinetralkan dengan menambahkan amonia. Netralisasi akan menjadikan dekstrin lebih stabil dalam penyimpanan. Dekstrin larut dalam air dingin dalam berbagai derajat tergantung pada kekuatan hidrolisisnya. Desktrin ini dapat digunakan untuk berbagai keperluan. Dektrin dapat dibuat dari berbagai sumber pati seperti tapioka dan kentang ataupun jagung. Sifat viskositas yang rendah dari dekstrin menjadikan dekstrin sering dipakai dalam pembuatan jelli sebagai sumber padatan yang menstabilkan tekstur permen (Blancard, 1995).

Cara-cara pembuatan dekstrin adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Secara Enzimatis.

Mula-mula pati dengan konsentrasi 30% diatur pada pH 5,2 kemudian ditambahkan enzim alfa-amilase. Suspensi kemudian diliquifikasi pada suhu 95⁰C sambil diaduk terus selama 3 jam. Proses inaktivasi enzim dilakukan dengan pendinginan pada suhu -4⁰ selama 1 jam. Dekstrin cair yang diperoleh dituang ke dalam loyang yang sudah dilapisi plastik kemudian dikeringkan. Setelah kering dekstrin tersebut dihaluskan dengan blender dan diayak.

2. Pembuatan Secara Asam.

Suspensi pati 30% ditambah HCl 0,5%. Suspensi kemudian diliquifikasi pada suhu 95°C dan diaduk. Setelah proses liquifikasi selesai lakukan penetralan. Dekstrin yang diperoleh dituang dalam loyang dan dikeringkan, diblender dan diayak.

3. Pembuatan Secara Kering.

Tepung tapioka dsangrai selama 3 jam. Penyangraian pertama pada suhu 80°C kemudian disemprot dengan HCl 0,4 N dengan tetap diaduk. Suhu dinaikkan sampai 120°C selama 2 jam. Dekstrin kering diangin-anginkan kemudian dilakukan pengayakan dan dikemas. (Blancard, 1995).

Arief (1987), mengemukakan bahwa struktur molekul dekstrin berbentuk spiral, sehingga molekul-molekul *flavor* yang terperangkap di dalam struktur spiral helix. Dengan demikian penambahan dekstrin dapat menekan kehilangan komponen *volatile* selama proses pengolahan. Dekstrin mempunyai viskositas yang relatif rendah, sehingga pemakaian dalam jumlah banyak masih diijinkan. Hal ini justru akan menguntungkan jika pemakaian dekstrin ditujukan sebagai bahan pengisi (*filler*) karena dapat meningkatkan berat produk yang dihasilkan (Dewi, 2000).

Dekstrin dapat digunakan pada proses enkapsulasi, untuk melindungi senyawa *volatile*, melindungi senyawa yang peka terhadap oksidasi atau panas, karena molekul dari dekstrin stabil terhadap panas dan oksidasi. Dekstrin dapat melindungi stabilitas *flavor* selama pengeringan dengan menggunakan *spray dryer* (Suparti, 2000).

Dewi (2000), mengemukakan bahwa kenaikan konsentrasi dekstrin dari 5-15% akan meningkatkan rendemen, densitas kampa, penurunan kadar air, total padatan terlarut serta gula pereduksi tepung instan sari buah nanas. Wijaya, (1995) dalam Suparti (2000), menyarankan penggunaan dekstrin sebesar 1,5% pada pembuatan pewarna bubuk dari daun suji dan daun pandan. Konsentrasi dekstrin 12,5 % akan memberikan perlakuan terbaik pada pembuatan bubuk sari buah sirih menggunakan metode *foam-mat drying* (Suryanto, 2000).

2.6 Sistem Imun

Sistem imun adalah sistem perlindungan pengaruh luar biologis yang dilakukan oleh sel dan organ khusus pada suatu organisme. Jika sistem kekebalan bekerja dengan benar, sistem ini akan melindungi tubuh terhadap infeksi bakteri dan virus, serta menghancurkan sel kanker dan zat asing lain

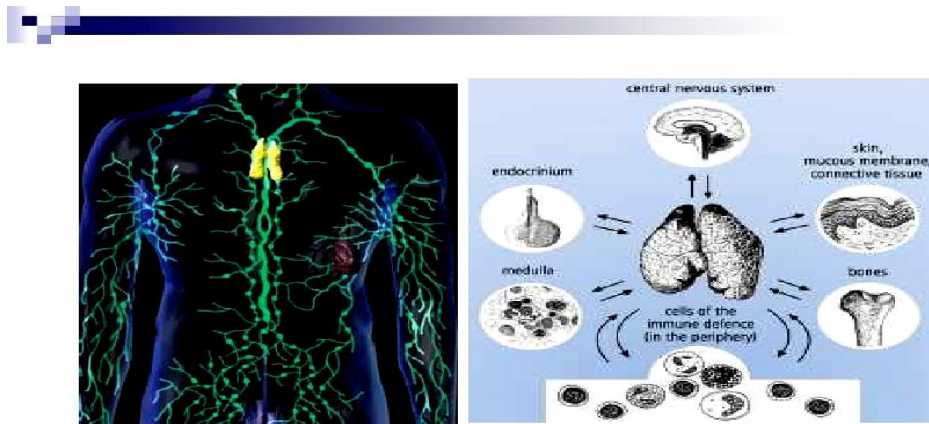
dalam tubuh. Jika sistem kekebalan melemah, kemampuannya melindungi tubuh juga berkurang, sehingga menyebabkan patogen, termasuk virus yang menyebabkan demam dan flu, dapat berkembang dalam tubuh. Sistem kekebalan juga memberikan pengawasan terhadap sel tumor, dan terhambatnya sistem ini juga telah dilaporkan meningkatkan resiko terkena beberapa jenis kanker (Ifanka, 2009).

Sistem imun terdiri dari rangkaian sel, protein, jaringan otot, dan organ-organ tertentu. Sel yang terlibat dalam sistem imun manusia adalah lekosit (sel darah putih) yang diproduksi dan disimpan di berbagai lokasi di tubuh, seperti *thymus*, limpa, dan sumsum tulang. Lekosit menyebar ke seluruh organ tubuh melalui pembuluh limpa dan pembuluh darah. Dengan demikian, sistem kekebalan tubuh dapat bekerja secara terkoordinasi dalam mengawasi pertahanan tubuh kita (Baratawidjaja, 2010)

Rangkaian sel, protein, jaringan otot, dan organ-organ tertentu itu adalah bagian dari sistem imun yang melindungi manusia dalam serangkaian proses yang dinamai respon imun. Karena ada respon imun, maka sistem imun dapat menyerang para pengganggu penyebab berbagai penyakit tersebut (Baratawidjaja, 2010)

Sistem respon itu dimulai ketika suatu antigen (substansi asing yang menyerang tubuh) memasuki tubuh, kemudian tubuh mengenali dan merespon antigen tersebut dengan cara memicu produksi antibodi (protein khusus yang diarahkan untuk antigen tertentu juga). Bila sudah diproduksi, antibodi itu akan bertahan di dalam tubuh dan bersiaga untuk menghalau antigen yang telah dikenali sebelumnya, sehingga bila seseorang sudah pernah terkena suatu penyakit tertentu, misalnya cacar air, biasanya ia tidak akan terkena penyakit yang sama untuk kedua kalinya (Baratawidjaja, 2010)

Sistem imun terbagi menjadi sistem imun alamiah (*innate immunity*) dan sistem imun didapat (*adaptive immunity*). Sistem imun alamiah atau non-spesifik terdiri dari pertahanan kulit dan mukosa, sekresi asam lambung, lisozim, fagositosis bakteri, komplemen, dan sebagainya. Sistem imun didapat atau spesifik terdiri atas sistem imun spesifik humoral yang diperankan limfosit B dan sistem imun spesifik selular yang diperankan limfosit T. Kedua jenis sistem ini berinteraksi dalam menghadapi infeksi di mana sistem imun non spesifik bekerja cepat dan merangsang terbukanya jalur sistem imun spesifik (Baratawidjaja, 2010).



Gambar 4. Letak Sistem Imun (Anonymous, 2011^a)

2.6.1 Limfosit

Limfosit adalah sejenis sel darah putih pada sistem kekebalan makhluk vertebrata. Ada dua kategori besar limfosit, limfosit berbutiran besar (*large granular lymphocytes*) dan limfosit kecil. Limfosit memiliki peranan penting dan terpadu dalam sistem pertahanan tubuh. Tiga jenis utama dari limfosit adalah sel B atau limfosit B (yang membuat antibodi), sel T atau Limfosit T (yang membantu untuk membunuh sel tumor dan mengendalikan respon imun), dan sel-sel pembunuh alami (yang menghancurkan sel yang terinfeksi atau diubah) (Dharmana dkk., 2007)

Limfosit T memegang peranan penting dalam sistem imun spesifik, terbagi dalam dua jenis yaitu sel T CD4+ dan sel T CD8+. Sel CD4+ berperan mengaktifasi makrofag untuk menghancurkan mikroba, aktivasi makrofag oleh CD4+ memicu terjadinya inflamasi dan *repair* terhadap jaringan yang rusak. Sel CD4+ sendiri terbagi menjadi dua subset, Th1 dan Th2, yang memproduksi jenis sitokin yang berbeda. Sementara itu, sel CD8+ berperan menghancurkan sel yang telah terinfeksi mikroba intraselular (Dharmana dkk., 2007).

Sel sistem imun spesifik terdiri atas sel B dan sel T yang masing-masing merupakan sekitar 10% dan 70-85% dari semua limfosit dalam sirkulasi. Sel B tidak mempunyai subset tetapi sel T terdiri atas beberapa subset: sel Th, Ts, Tc dan Tdh. Sel B merupakan asal dari sel plasma yang membentuk imunoglobulin (Ig) yang terdiri atas IgG, IgM, IgA, IgE dan IgD. IgD berfungsi sebagai opsonin, dapat mengaglutinasikan kuman/virus, menetralkan toksin dan virus, mengaktifkan komplemen (jalur klasik) dan berperan pada *Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity* (ADCC). ADCC tidak hanya merusak sel tunggal tetapi juga mikroorganisme multiselular seperti telur skistosoma, kanker,

penolakan transplan, sedang ADCC melalui neutrofil dan eosinofil berperan pada imunitas parasit (Suryawan, 2010).

IgM dibentuk terdahulu pada respons imun primer sehingga kadar IgM yang tinggi menunjukkan adanya infeksi dini. IgM merupakan aglutinator antigen serta aktivator komplemen (jalur klasik) yang poten. IgA ditemukan sedikit dalam sekresi saluran napas, cerna dan kemih, air mata, keringat, ludah dan air susu ibu dalam bentuk IgA sekretori (sIgA). IgA dan sIgA dapat menetralkan toksin, virus, mengagglutinasikan kuman dan mengaktifkan komplemen (jalur alternatif). IgE berperan pada alergi, infeksi cacing, skistosomiasis, penyakit hidatid, trikinosis. Peranan IgD belum banyak diketahui dan diduga mempunyai efek antibodi pada alergi makanan dan autoantigen (Suryawan, 2010).

2.6.2 Interferon- γ (IFN- γ)

Interferon adalah suatu glikoprotein yang dihasilkan oleh berbagai sel tubuh yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respon terhadap infeksi. *Interferon- γ* , atau *interferon* tipe II adalah *pleiotropic cytokine* yang terlibat dalam hampir semua tahapan regulasi dari imun dan respon *inflamasi*, termasuk aktivasi, pertumbuhan dan differensiasi sel T, sel B, *makrofag*, sel NK dan sel jenis lain seperti sel-sel *endothelial* dan *fibroblast* (Abbas *et al.*, 2005).

Interferon- γ (IFN- γ) merupakan salah satu jenis sitokin yang disekresi oleh *limfosit* Th1, sel NK, dan *limfosit* Tc, dengan sumber utama adalah *limfosit* Th1. *IFN- γ* disekresi oleh *limfosit* T setelah dirangsang antigen spesifik. Mekanisme perlindungan terhadap tubuh yang dilakukan *IFN- γ* terjadi melalui reseptor di membran sel dan dengan mengaktifkan gen yang memacu sel untuk memproduksi protein antivirus. *IFN- γ* merupakan aktivator utama *makrofag* untuk memacu *fagositosis*, *oxydative burst* dan *Reactive Nitrogen Intermediate (RNI)* untuk *intracellular killing*

2.6.3 Immunomodulator

Imunomodulator adalah suatu senyawa yang dapat mempengaruhi sistem imun humoral maupun seluler. Ada 2 tipe *imunomodulator*, yaitu *imnostimulator* (meningkatkan sistem imun) dan *imunosupresor* (menekan sistem imun). Beberapa senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman mempunyai efek *imunostimulator* (misal *polisakarida* dalam Aloe vera, dan *proteoglikan* dalam Ganoderma lucidum) dapat meningkatkan aktivitas *limfosit* atau mempunyai efek *imunosupresor* (misal *alkaloidtetrandrin* dalam Stephania tetrandra S.Moore)

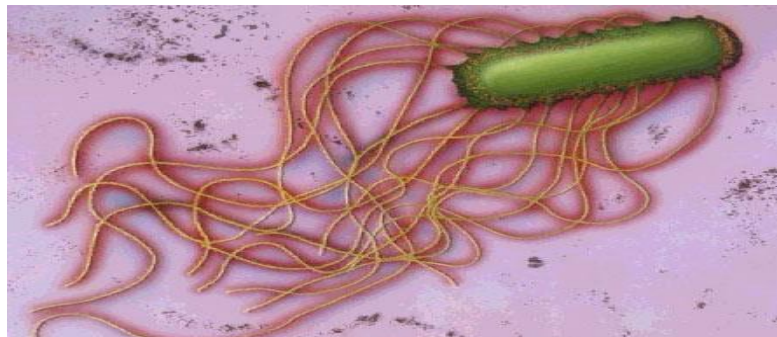
mempunyai potensi untuk autoimmune diseases, khususnya rheumatoid arthritis (Lai, 2002).

Polifenol adalah senyawa aktif yang telah terbukti bersifat *imunomodulator* yaitu secara efektif dapat menstimulasi *proliferasi polipheral blood mononuclear cell* (PBMC), produksi Ig, IL2 dan *IFN-γ* (Vinerdell and Mitjaans, 2008). Komponen fenolik dari berbagai tanaman juga telah terbukti mempunyai efek positif terhadap respon proliferaatif dan sitolitik pada sel *limfosit* (Tang and Eisenbrand, 1992). Komponen fenolik ekstrak *Hsian tsao* dominan yang telah teridentifikasi adalah *Protocatechuic acid*, *Vanillic acid*, *caffeic acid* dan *syringic acid* (Hung and Yen, 2002). *Caffeic acid* selain sebagai antioksidan juga bersifat antikarsinogenik, antivirus dan *imunomodulator* pada sistem imun mencit (Park *et al.*, 2004). Komponen bioaktif lain *Hsian tsao* yang telah berhasil diidentifikasi diantaranya adalah *oleanolic acid* dan *ursolic acid* yang memiliki efek antiinflamasi dan antikanker serta memacu imunitas tubuh (Hung and yen, 2001; Jie Li, 2002; Shishodia *et al.*, 2003).

2.7 *Salmonella*

2.7.1 Morfologi dan identifikasi *Salmonella typhimurium*

Salmonella sp. merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek dan termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, genus *Salmonellae*.²⁴ *Salmonella* bersifat motil dengan *peritrichous flagella*, memfermentasi glukosa dan manosa tanpa memproduksi gas, tetapi tidak memproduksi laktosa. Sebagian besar *Salmonella* memproduksi gas H₂S. *Salmonella* tahan terhadap bahan kimia tertentu seperti *brilliant green*, sodium tetrathionat dan sodium dioksilat, yang menghambat bakteri lain sehingga senyawa tersebut sering ditambahkan pada media untuk mengkultur *Salmonella* (Brooks, 2005)



Gambar 5. *Salmonella sp* (Anonymous, 2012^c)

Beberapa jenis media telah direkomendasikan untuk mengisolasi *Salmonella*. Beberapa media bersifat diferensial dan non selektif, media tersebut

mengandung laktosa dan pH indikator (*bromocresol purple lactose agar*). Media lain bersifat lebih diferensial dan selektif karena selain mengandung laktosa dan pH indikator juga mengandung zat-zat inhibitor terhadap bakteri non *Salmonella* (agar *MacConkey*, agar *eosin-methylene blue*). Media yang paling sering digunakan untuk mengisolasi *Salmonella* adalah agar *Salmonella Shigella* (SS), agar *bismuth sulfite*, media *Hektoen enteric* (HE), agar *brilliant green* dan agar *xylose-lisine-deoxycholate* (XLD) (Todar, 2008)

Ada lebih dari 2400 serotipe *Salmonella* yang pembagiannya berdasar atas epidemiologi, jenis inang, reaksi biokimia, dan struktur antigen O, H dan Vi. Pada bakteri gram negatif dinding sel terdiri dari lapisan peptidoglikan dan membran luar yang terdiri dari lipoprotein dan lipopolisakarida (LPS) . LPS yang sangat toksin disebut endotoksin karena dia melekat erat pada permukaan sel dan hanya dikeluarkan jika sel mengalami lisis (Brooks, 2005)

Berdasarkan taksonominya, *Salmonella* sp. dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Salmonella</i> (Todar, 2008)



Gambar 6. Koloni *Salmonella* sp. (pembesaran 100x) (Todar, 2008)

Salmonella sp. pertama ditemukan (diamati) pada penderita demam tifoid pada tahun 1880 oleh Eberth dan dibenarkan oleh Robert Koch dalam budidaya bakteri pada tahun 1881 (Todar, 2008). *Salmonella* sp. adalah bakteri bentuk batang, pada pengecatan gram berwarna merah muda (gram negatif). *Salmonella* sp. berukuran $2\ \mu$ sampai $4\ \mu \times 0,6\ \mu$, mempunyai flagel (kecuali *S. gallinarum* dan *S. pullorum*), dan tidak berspora (Julius, 1990). Habitat *Salmonella* sp. adalah di saluran pencernaan (usus halus) manusia dan hewan.

Suhu optimum pertumbuhan *Salmonella* sp. ialah 37⁰ C dan pada pH 6-8 (Julius, 1990).

Skema kauffman dan white tatanama *Salmonella* sp. di kelompokkan berdasarkan antigen atau DNA yaitu kelompok I enteric, II salamae, IIIa arizonae, IIIb houtenae, IV diarizonae, V bongori, dan VI indica. Komposisi dasar DNA *Salmonella* sp adalah 50-52 mol% G+C, mirip dengan *Escherichia*, *Shigella*, dan *Citrobacter* (Todar, 2008). Namun klasifikasi atau penggunaan tatanama yang sering dipakai pada *Salmonella* sp. berdasarkan epidemiologi, jenis inang, dan jenis struktur antigen (misalnya *S. typhi*, *S. thipirium*). Jenis atau spesies *Salmonella* sp. yang utama adalah *S. typhi* (satu serotipe), *S. choleraesuis*, dan *S. enteritidis* (lebih dari 1500 serotipe). Sedangkan spesies *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C* termasuk dalam *S. enteritidis* (Jawezt *et al.*, 2004).

2.7.2 Antigen dan Virulensi Salmonella

Salmonella sp. mempunyai tiga macam antigen utama untuk diagnostik atau mengidentifikasi yaitu : somatik antigen (O), antigen flagel (H) dan antigen Vi (kasul) (Todar, 2008). Antigen O (*Cell Wall Antigens*) merupakan kompleks fosfolipid protein polisakarida yang tahan panas (termostabil), dan alkohol asam (Julius, 1990). Antibodi yang dibentuk adalah IgM (Karsinah *et al.*, 1994). Namun antigen O kurang imunogenik dan aglutinasi berlangsung lambat (Julius, 1990). Maka kurang bagus untuk pemeriksaan serologi karena terdapat 67 faktor antigen, tiap-tiap spesies memiliki beberapa faktor (Todar, 2008). Oleh karena itu titer antibodi O sesudah infeksi lebih rendah dari pada antibodi H (Julius, 1990).

Antigen H pada *Salmonella* sp. dibagi dalam 2 fase yaitu fase I : spesifik dan fase II : non spesifik. Antigen H adalah protein yang tidak tahan panas (termolabil), dapat dirusak dengan pemanasan di atas 60°C dan alkohol asam (Karsinah *et al.*, 1994). Antigen H sangat imunogenik dan antibodi yang dibentuk adalah IgG (Julius, 1990). Sedangkan Antigen Vi adalah polimer dari polisakarida yang bersifat asam, terdapat dibagian paling luar dari badan kuman, bersifat termolabil dan dapat dirusak dengan pemanasan 60°C selama 1 jam. Kuman yang mempunyai antigen Vi bersifat virulens pada hewan dan mausia. Antigen Vi juga menentukan kepekaan terhadap bakteriofaga dan dalam laboratorium sangat berguna untuk diagnosis cepat kuman *S. typhimurium* (Karsinah *et al.*, 1994). Adanya antigen Vi menunjukkan individu yang bersangkutan merupakan pembawa kuman (carrier) (Julius, 1990).

Salmonella sp. bersifat aerob dan anaerob fakultatif, pertumbuhan *Salmonella* sp. pada suhu 37°C dan pada pH 6-8. *Salmonella* sp. memiliki flagel jadi pada uji motilitas hasilnya positif, pada media BAP (*Blood Agar Plate*) menyebabkan hemolisis. Pada media MC (*MacConkey*) tidak memfermentasi laktosa atau disebut Non Laktosa Fermenter (NLF) tapi *Salmonella* sp. memfermentasi glukosa, manitol dan maltosa disertai pembentukan asam dan gas kecuali *S. typhimurium* yang tidak menghasilkan gas. Kemudian pada media indol negatif, MR positif, Vp negatif dan sitrat kemungkinan positif. Tidak menghidrolisis urea dan menghasilkan H₂S (Julius, 1990).

Salmonellosis adalah istilah yang menunjukkan adanya infeksi *Salmonella* sp. Manifestasi klinik Salmonellosis pada manusia ada 4 sindrom yaitu:

1. Gastroenteritis atau keracunan makanan merupakan infeksi usus dan tidak ditemukan toksin sebelumnya (Karsinah *et al.*, 1994). Terjadi karena menelan makanan yang tercemar *Salmonella* sp. misalnya daging dan telur (Julius, 1990). Masa inkubasinya 8-48 jam, gejalanya mual, sakit kepala, muntah, diare hebat, dan terdapat darah dalam tinja. Terjadi demam ringan yang akan sembuh dalam 2-3 hari. Bakterimia jarang terjadi pada penderita (2-4%) kecuali pada penderita yang kekebalan tubuhnya kurang (Jawez *et al.*, 2004).
2. Demam tifoid yang disebabkan oleh *S. typhi*, dan demam paratifoid disebabkan *S. paratyphi* A, B, dan C. Kuman yang masuk melalui mulut masuk ke dalam lambung untuk mencapai usus halus, lalu ke kelenjar getah bening. Kemudian memasuki ductus thoracicus. Kemudian kuman masuk dalam saluran darah (bakterimia) timbul gejala dan sampai ke hati, limpa, sumsum tulang, ginjal dan lain-lain. Selanjutnya di organ tubuh tersebut *Salmonella* sp. berkembang biak (Julius, 1990).
3. Bakterimia (septikimia) dapat ditemukan pada demam tifoid dan infeksi *Salmonella non-typhi*. Adanya *Salmonella* dalam darah beresiko tinggi terjadinya infeksi. Gejala yang menonjol adalah panas dan bakterimia intermiten (Karsinah *et al.*, 1994). Dan timbul kelainan-kelainan lokal pada bagian tubuh misalnya osteomielitis, pneumonia, abses paru-paru, meningitis dan lain-lain. Penyakit ini tidak menyerang usus dan biakan tinjanya negatif (Julius, 1990).

4. Carrier yang asomatik adalah semua individu yang terinfeksi *Salmonella* sp. akan mengekskresi kuman dalam tinja untuk jangka waktu yang bervariasi disebut carrier convalescent, jika dalam 2-3 bulan penderita tidak lagi mengekskresi *Salmonella*, jika dalam 1 tahun penderita masih mengekskresi *Salmonella* disebut carrier kronik (Karsinah *et al.*, 1994).

Salmonella juga mempunyai kemampuan bermultiplikasi dalam parenkhim sel non fagosit, seperti hepatosit dan epitel intestinal (Santos, 2002). Di dalam sel, mikroba ini tinggal dalam vakuola yang berikatan dengan membran. Hal ini memungkinkannya terlindungi dari makrofag dan respons humoral. Antigen bakteri yang mencapai sitoplasma akan didegradasi dan menghasilkan fragmen peptida yang berikatan dengan MHC I untuk dipresentasikan ke CD8 (Irmawati, 2004).

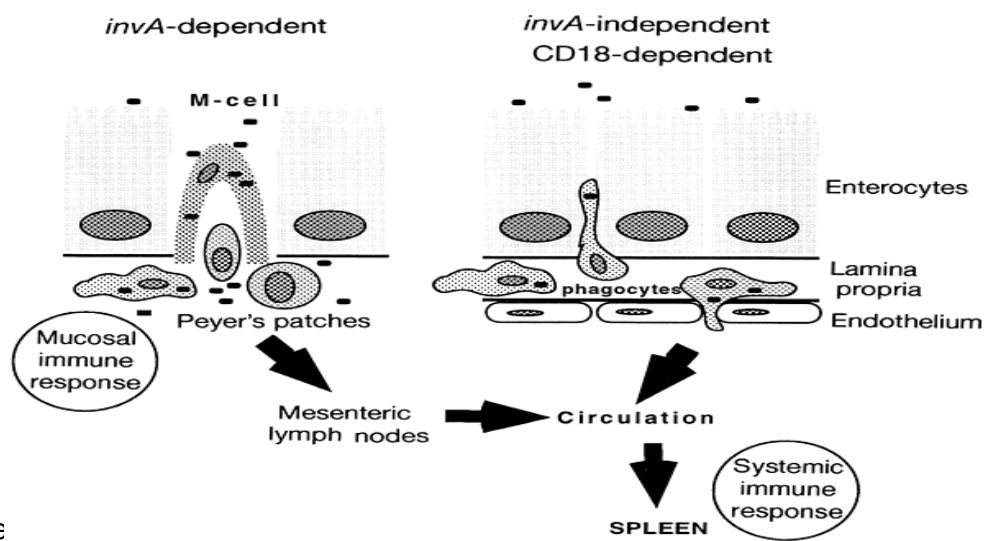
2.7.3 Patogenesis penyakit dan respons imun terhadap *Salmonella*

Salmonella patogenik mempunyai urutan gen invasif (Wilson, 2002), menghasilkan protein yang disekresi oleh bagian khusus untuk menghancurkan epitel. *Salmonella* yang masuk ke dalam saluran cerna akan menembus epitel illeosekal (Zhang, 2003) dan bermultiplikasi dalam folikel limfoid intestinal (Monack, 2004), kemudian mengikuti aliran limfe memasuki sirkulasi darah menuju organ RES terutama hepar dan limpa serta organ lain sehingga akan menyebabkan perubahan histopatologik organ-organ tersebut. Kemungkinan kedua adalah bakteri mencapai sirkulasi karena terbawa makrofag yang terinfeksi (Irmawati, 2004).

Salmonella memasuki epitel illeum dengan cara invaginasi pada mikrovili yang akan membesar dan menyatu bersamaan dengan masuknya bakteri tersebut melalui *brush border*. *Salmonella* dapat merusak permukaan penghubung yang menyatukan sel epitel dan melakukan penetrasi pada barrier epitel melalui radang interseluler. Pada plak peyeri terjadi pembengkakan berwarna merah muda di akhir minggu I, namun permukaan mukosa tetap utuh. Kelenjar limfe mesenterium juga membesar dan terdapat area nekrotik serta hemoragik. Pada akhir minggu III dasar ulkus meluas sampai lapisan otot, permukaan usus tertutup serosa dan bisa menjadi peritonitis fibrosa (Prasetyo, 2005).

Bakteri akan melalui aliran darah ke limpa yang akan menghasilkan respons imun spesifik (Torres, 2008). Sementara itu perubahan histopatologi hepar terjadi akibat dari endotoksin *Salmonella* dan reaksi imun melawan kuman

sehingga timbul jejas pada sel hepatosit yang bersifat *reversible*. Dengan mikroskop cahaya di hepar akan terlihat gambaran degenerasi lemak disertai pembengkakan sel sebagai manifestasi pertama jejas akibat pergeseran air ekstra ke intrasel. Hepar mengalami hiperemia, lebih lunak dan membengkak serta dapat terjadi pembentukan abses. *Cloudy swelling* juga bisa terjadi pada minggu pertama infeksi, terjadi degenerasi *ballooning* dengan vakuolisasi sel-sel hepatosit. Proliferasi sel kupffer, limfosit, dan neutrofil muncul diantara sel-sel hepatosit yang disertai pembentukan fokal *nodul typhoid* (Prasetyo, 2005).



hiperemia pulpa merah serta infiltrasi neutrofil dan makrofag ke dalam limpa. Aktivasi limfosit limpa disebabkan oleh respons imun dan peran makrofag serta sel NK dengan dikeluarkannya sitokin seperti IFN γ dan TNF α . Pada gambaran histopatologi mungkin tampak splenitis, nekrosis multifokal dan sering disertai dengan koloni bakteri (Prasetyo, 2005).

Secara singkat perjalanan infeksi sistemik *Salmonella* dapat digambarkan dalam beberapa fase. Fase I terjadi sekitar 1 jam setelah diinfeksi secara intravena atau intraperitoneal, lebih dari 90 % kuman yang diinokulasi ditangkap dan dirusak oleh fagosit residen. Fase II dimulai sejak hari I infeksi yang disebut tahap pertumbuhan eksponensial. Kuman masuk ke dalam sirkulasi melalui pembuluh limfe melakukan invasi ke hepar dan limpa untuk selanjutnya melakukan multiplikasi. Neutrofil sangat penting pada fase ini sebagai pertahanan *host* dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Fase III terjadi setelah 3-7 hari, pertumbuhan bakteri pesat di hati dan limpa serta menjadi pertumbuhan yang menetap. Makrofag yang teraktivasi memproduksi sitokin proinflamasi. Makrofag teraktivasi bukan untuk membunuh akan tetapi untuk

meningkatkan killing sel NK dengan produksi sitokinnya. Fase pembersihan terjadi setelah minggu ketiga infeksi yang melibatkan imun adaptif khususnya sel T (Irmawati, 2004).

Respons imun terhadap salmonella meliputi sistem imun natural (*innate*) dan sistem imun adaptif (*acquired*) (Ugrinovic, 2003). Sistem imun natural berfungsi untuk mengidentifikasi dan melawan mikroba serta penanda imun adaptif.17 Respons imun natural dimulai dengan pengenalan komponen bakteri seperti LPS dan DNA, diikuti pengambilan dan penghancuran bakteri oleh sel fagosit yang memfasilitasi proteksi host terhadap infeksi. Peran ini dilakukan oleh makrofag, sel NK, dan neutrofil (Zhang, 2003). Adapun pengeluaran mediator inflamasi berfungsi untuk memperkuat respons imun (Irmawati, 2004).

Makrofag mensekresi IL-1, -6, -8, -12, -15, -18 dan TNF alfa^{31,38,51}. Interleukin -1, -6, dan TNF alfa bekerja sinergis untuk meningkatkan aktivasi sel T dan respons radang akut. Interleukin-8 membantu menarik neutrofil ke tempat infeksi (Santos, 2002). Interleukin -12 mengaktivasi sel NK dan memicu diferensiasi CD4 menjadi Th1. Interleukin -12 juga meningkatkan kemampuan bakterisidal fagosit, meningkatkan IFN- γ , dan meningkatkan sintesis NO. Interleukin -15 penting untuk respons inflamasi, fungsi antimikrobal neutrofil, stimulasi CD8 serta perkembangan, *survival*, dan fungsi sel NK. Interleukin -18 menginduksi IFN- γ , ko-aktivasi Th1, dan perkembangan sel NK (Wilson, 2002). Makrofag juga mengeluarkan ROI dan RNI yang dapat meningkatkan mekanisme membunuh bakteri. Makrofag mampu menghancurkan bakteri dengan *respiratory burst* yang menghasilkan *reactive oxygen species (ROS)* seperti superoksida, hidrogen peroksidase dan NO (Irmawati, 2004).

Sel NK berperan sebagai sel sitotoksik atau sitolitik yang dapat menghancurkan sel yang terinfeksi. Sel NK juga memproduksi IFN- γ , TNF alfa, dan *granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)*. IFN γ meningkatkan sejumlah reseptor TNF alfa dan transkripsi mRNA. Sebaliknya TNF alfa dibutuhkan untuk produksi IFN- γ . IFN- γ meningkatkan respons CMI dengan mengaktivasi makrofag dan menginduksi diferensiasi sel Th menjadi Th1. Sel NK berperan sebagai jembatan antara imunitas alami dan imunitas adaptif, memodulasi hematopoiesis, dan meningkatkan granulosit makrofag (Irmawati, 2004).

Neutrofil mampu menghasilkan *oxidative burst* seperti makrofag yang berkontribusi dalam membunuh bakteri. Nitrit oksida (NO) diproduksi bersama

dengan L-sitrulin melalui oksidasi enzimatis dari L-arginin. Produksi NO distimulasi oleh IFN γ , TNF alfa, IL-1 dan IL-2. Nitrit oksida merupakan implikasi respons terhadap bakteri intraseluler seperti *Salmonella* yang tercermin dengan melimpahnya NO di bagian luar fagosom. Antara ROI dan NO dapat berinteraksi dengan membentuk spesies antimikroba yang lebih toksik seperti peroksi-nitrit yang dapat meningkatkan daya bunuh makrofag terhadap *Salmonella* (Irmawati, 2004).

Sementara itu pada imun adaptif sel yang berperan adalah APC, sel T dan sel B (Ugrinovic, 2003). Sel dendritik merupakan APC yang penting dalam inisiasi respons imun yang diperantarai sel T dan bersama dengan makrofag mempresentasikan antigen yang diproses dari bakteri intrasel gram negatif seperti *Salmonella* (Torres, 2008).

Pada infeksi bakteri intraseluler dan virus pada sediaan apus darah tepi dapat terlihat limfosit atipik / teraktivasi dengan limfosit yang lebih besar dan reaktif, sitoplasma lebih lebar, warna lebih biru atau abu-abu, inti oval, bentuk ginjal atau *lobulated*, kadang kadang terdapat anak inti dan kromatin lebih kasar. 8 Faktor yang berperan dalam perubahan sel Th adalah limfokin yang mengaktifkannya. Jika berupa IL-2 dan IFN γ , yang berkembang adalah Th1 dan akan menekan Th2. Sebaliknya jika IL-4 yang dikeluarkan, maka Th2 yang akan berkembang. Diferensiasi sel Th juga dipengaruhi jenis APC, jika APC-nya makrofag (sumber IL-12), yang akan berkembang adalah Th1, tetapi jika APC-nya sel B, yang berkembang Th2 (Torres, 2008).

Sel T diperlukan untuk ekspresi penuh imunitas terhadap *Salmonella*. Sel T dengan *Cluster designation 4* (CD4) berfungsi dalam membantu aktivasi dan diferensiasi sel B. Selain membantu sel B membentuk antibodi, juga membantu pembentukan CD8 spesifik salmonella dan pengaturan pembentukan granuloma untuk membatasi penyebaran bakteri. *Cluster designation 8* (CD8) ini dapat melisis sel yang terinfeksi dan memproduksi sitokin yang dibutuhkan untuk pengerahan dan aktivasi fagosit⁵³. Ketika distimulasi, CD4 akan memproduksi IL-2 yang dibutuhkan sel T untuk berkembang menjadi Th. Defisiensi CD4 menyebabkan terjadinya infeksi kronis, sedangkan pada defisiensi sel B masih mampu mengontrol dan mengeliminasi infeksi *Salmonella*. Jadi dapat disimpulkan bahwa CD4 juga berperan untuk mengaktivasi fagosit dan bukan sekedar memberi bantuan sel B (Torres, 2008).

2.8 Mencit (*Mus musculus*)

2.8.1 Asal Usul Hewan Mencit

Mencit rumah atau mencit liar mempunyai penyebaran hidup yang luas di pelosok dunia. Hewan ini umum ditemui dalam kehidupan yang erat hubungannya dengan manusia, di rumah-rumah tinggal, gudang, tempat-tempat pertanian, tempat penyimpanan makanan dan lain-lain tempat yang penuh sesak dan kurang teratur. Mencit dikenal sebagai hewan nok-turnal, dimana aktivitas kehidupannya banyak berlangsung pada malam hari (Setijono, 1985)

Mencit merupakan mamalia pengerat. Sebagaimana mamalia lainnya, mencit memperlihatkan persamaan dan perbedaannya. Apabila dilihat dari asal-usulnya dalam sistem taksonomi, maka akan tampak mulai dari mana munculnya persamaan dan perbedaannya. Makin jauh dari asalnya dan makin menuju ke suatu jenis (spesies) dan turunannya, maka makin tampaklah persamaan-persamaan tersebut. Berikut ini adalah asal-usul mencit dalam sistem taksonomi yang ada, dikutip dari Lane Petter (1976) dan Ungerer dkk. (1985) dalam Setijono (1985).

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Cordata
Sub-phylum.	:	Vertebrata
Class	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Sub-ordo	:	nyomorpha
Famili	:	Muridae
Sub-famili	:	Murinae
Genus	:	Mus
Spesies	:	musculus

Domestikasi dan pemeliharaan mencit-mencit ini mengarahkan kepada perbedaan-perbedaan dan perkembangan genetik melalui seleksi dan pemuliaan-pemuliaan sesuai dengan yang dikehendaki, sehingga muncullah "breed", "strain", dan varietas-varietas baru. Hasil-hasil yang muncul tersebut kemudian dimanfaatkan dan dikembangkan lebih luas lagi sebagai hewan percobaan atau sebagai hewan model dalam dunia riset (Setijono, 1985)

2.8.2 Anatomi dan Fisiologi Mencit

- Anatomi Mencit

Dilihat dari bentuk luarnya, mencit tampak praktis dan efisien untuk penelitian-penelitian dalam laboratorium yang ruangnya terbatas. Luas permukaan tubuhnya 36 cm^2 pada berat badan 20 gram. Bobot pada waktu lahir berkisar antara 0,5-1,5 gram yang akan meningkat sampai lebih kurang 40 gram pada umur 70 hari atau 2 bulan (Harkness, 1983). Berat badan mencit jantan dewasa berkisar antara 20-40 gram dan mencit betina dewasa 25-40 gram (Setijono, 1985)

Sebagai hewan pengerat, mencit memiliki gigi seri yang cukup kuat dan gigi seri ini terbuka. Susunan gigi-geligi mencit selengkapnya adalah sebagai berikut incisivus 1/2, caninus 0/0, premolar 0/0 dan molar 3/3 tanpa pergantian gigi (Setijono, 1985)

Selain itu anatomi mencit yang khas lainnya adalah limpa pada mencit jantan 50% lebih besar dari pada mencit betina. Kemudian mencit betina mempunyai 5 pasang kelenjar ambing, 3 pasang terletak dibagian ventral thoraks dan 2 pasang lainnya di bagian inguinal. Kanalis inguinalis pada mencit jantan terbuka selama hidupnya (Setijono, 1985)

- Fisiologi Mencit

Hewan apabila dalam perjalanan perkembangan hidupnya makin mendekati kesuatu jenis (spesies), maka hewan-hewan tersebut makin mempunyai banyak persamaan fisik dan tingkah laku. Oleh sebab itulah sebelum memulai suatu rangkaian percobaan, para peneliti harus terlebih dahulu memahami keadaan dan sifat-sifat dasar yang dimiliki oleh hewan percobaan tersebut untuk mendapatkan hasil pengamatan yang dapat diandalkan ketepatannya (Setijono, 1985)

Dalam Tabel 5. digambarkan pendekatan-pendekatan nilai-nilai fisiologi mencit sebagai hewan percobaan yang dikutip dari Harkness (1983).

Tabel 5. Nilai-nilai Fisiologi Hewan Mencit

Berat badan dewasa jantan	20-40 g
Berat badan dewasa betina	25-40 g
Berat lahir	0,5-1,5 g
Luas permukaan badan	20 g :36 cm
Angka diploid	40
Jangka waktu hidup	1,5-3 th
Konsumsi makanan	15 g/100 g/hr
Konsumsi air	15 ml/100 g/hr
Waktu transit pencernaan	8-14jam
Onset perkawinan, jantan	50 hari
Onset perkawinan, betina	50-60 hari
Siklus birahi	4-5 hari
Lama kebuntingan	19-21 hari
Estrus postpartum	fertil
Jumlah kelahiran	10 - 12
Urnur penyapihLn	21-28 hari
Lama perkemoangbiakan	7-9 bulan
Produksi anak	8/minggu
Komposisi air susu	protein 9,0% ,laktosa 3,2 %, lemak 12,1 %

(Harkness,1983) dalam Setijono (1985)

2.8.3 Penyakit-penyakit yang Umum pada Mencit.

Infectious Ectromelia (Mouse Pox). Penyakit ini disebabkan oleh Poxvirus muris, dengan gejala akut adalah hewan akan mati tidak lama setelah muncul gangguan keadaan umum, sedang gejala kronis yang tampak yaitu hewan kelihatan sakit dalam waktu yang lama dan ruam-ruam di kulit serta luka-luka memborok terutama di bagian kaki dan ekor, sehingga bagian tersebut harus diamputasi. Tetapi penyakit ini jarang menyebabkan kematian. Diagnosa dapat dilakukan dengan pemeriksaan patologi anatomi, histopatologi, isolasi virus pada mencit atau telur tertunas atau dapat juga dengan HI (Haemagglutination Inhibiting) tes. Kontrol penyakit dilakukan dengan mengisolasi hewan sakit. Hewan sehat dapat diimunisasi dengan vaksin virus cacar. Penyakit ini tidak menular ke manusia (Setijono, 1985)

Lymphocytic Choriomeningitis (LCM). Penyebab penyakit ini adalah virus LCM. Dalam fase akut pada mencit muda ditandai dengan konvulsi, paralisis kaki belakang dan konjungtivitis. Diagnosa dilakukan dengan mengisolasi virus pada marmot atau inokulasi intraserebral pada mencit. Hewan tersebut akan mati sekitar 1 minggu. Virus dapat diidentifikasi dengan antisera yang telah diketahui. Kontrol penyakit dapat dilakukan dengan menjalankan uji serologis terhadap stok mencit dan dipelihara dalam tempat yang terisolasi (Setijono, 1985)

Infantile Diarrhea. Penyakit ini disebabkan oleh virus diare. Kejadian umumnya pada mencit yang berumur antara 7-17 hari, mencit dewasa tidak menunjukkan tanda-tanda terinfeksi. Gejala yang tampak adalah kulit dan rambut kaku serta lengket, feses kekuningan, perejanan abdominal, punggung bersisik, setelah 2-3 hari terjadi obstipasi dan pertumbuhan terhambat. Setelah satu minggu terjadi akumulasi feses di anus. Mortalitas sekitar 35%-50%. Diagnosa berdasarkan gejala, pemeriksaan patologi - anatomi dan sejarah penyakit. Kontrol, koloni mencit harus dimulai dengan stok yang bebas penyakit, hewan baru harus diisolasi terlebih dahulu. Makanan, bedding dan peralatan harus disterilisasi (Setijono, 1985)

Pseudotuberculosis. Organisme penyebab penyakit ini adalah *Corynebacterium pseudotuberculosis* dan *C. kutscheri*. Gejala yang tampak adalah aspesifik seperti lesu, lemah dan respirasi meningkat. Diagnosa dengan identifikasi dari lesio-lesio yang karakteristik di ginjal, myocard, hati, paru-paru dan lymphoglandula. Kontrol, hewan terinfeksi harus disingkirkan (Setijono, 1985)

Salmonellosis (Mouse Typhoid). Organisme penyebabnya adalah *Salmonella typhimurium* atau *Salmonella enteritidis*. Pada mencit penyakit ini seringkali terjadi dengan tanda-tanda diare, rambut kasar, lemah, kehilangan berat badan dan mempunyai mortalitas 100% pada strain mencit yang peka dan 52% pada strain yang resisten. Diagnosa dilakukan dengan identifikasi organisme dari feses, darah, hati atau limpa. Kontrol, koloni yang terinfeksi dimusnahkan, sterilisasi makanan, kandang dan perlengkapannya. Koloni baru harus dimulai dengan stok yang bebas, karantina hewan-hewan baru. Penyakit ini dapat ditularkan ke manusia (Setijono, 1985)

Septicemia. Penyebab penyakit ini adalah *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Hewan yang terinfeksi menunjukkan tanda-tanda konjungtivitis dan mata mengeluarkan eksudat yang bersifat purulen. Diagnosa dilakukan dengan isolasi dan identifikasi organisme dari lesio yang karakteristik pada limpa. Kontrol memulai koloni baru dengan stok yang bebas penyakit (Setijono, 1985)

Infestasi Cacing. Cacing-cacing yang sering terdapat pada mencit adalah *Syphac'iaobvulata*, *Aspicularis tetra- ptera*, atau *Trichosomoides crassicauda*. Parasit ini umum ditemukan dalam koloni mencit yang sanitasinya kurang baik. Telur cacing infeksiif dimakan oleh hewan menjadi cacing dewasa di dalam sekum dan kolon dalam waktu 15-20 hari. Gejala-gejala yang tampak adalah diare dan

enteritis. Diagnosa dilakukan dengan pengamatan dan identifikasi telur cacing. Kontrol, mencegah kontaminasi makanan, air dan bedding dengan sanitasi yang baik. Koloni dimulai dengan stok yang baik (Setijono, 1985)

Infestasi Kutu. Kutu yang umum ditemukan pada mencit adalah *Polyplex serrata*. Umum terjadi pada koloni mencit yang mempunyai sanitasi buruk. Telur berada di rambut dan berkembang sekitar dua minggu. Bila terjadi infestasi yang meluas, hewan akan kekurangan darah dan dapat menimbulkan kematian. Diagnosa dilakukan dengan mengidentifikasi telur dan kutu dewasa. Kontrol, dilakukan disinfeksi kandang dan perlengkapannya dengan disinfektan yang nontoksik. Tindakan rutin dilakukan untuk mencegah infestasi kembali dari peralatan, makanan dan bedding hewan (Setijono, 1985)

Infestasi lalat. Lalat yang umum menginfestasi adalah *Ctenopsyllus segnis*. Sanitasi yang jelek menyebabkan munculnya lalat-lalat. Telur banyak terdapat pada bedding. Tanda-tanda yang umum adalah iritasi. Diagnosa dilakukan dengan identifikasi lalat. Kontrol, bedding dibersihkan dengan insektisida yang nontoksik. Reinfestasi dapat dicegah dengan sterilisasi makanan, bedding dan peralatan kandang (Setijono, 1985)

Infestasi Tungau. Beberapa tungau yang dapat menginfestasi mencit adalah: *Bdellonyssus bacoti*, *Echinolaelaps echidninus*, *Myobia musculi*, *Psoregates simplex*, *Myocoptes musculimes*, *M.rombousti*, dan *Rabfordia affinis*. Kejadian infestasi ini diakibatkan oleh jeleknya sanitasi dalam koloni mencit tersebut. Tanda-tanda yang tampak adalah iritasi dan rambut tampak kasar. Diagnosa dapat dilakukan dengan pengamatan dan identifikasi tungau. Kontrol, hewan yang terinfestasi didipping dalam insektisida yang nontoksik. Untuk mencegah reinfestasi dilakukan *sterilisasi bedding*, peralatan dengan insektisida yang nontoksik (Setijono, 1985)

Munculnya penyakit-penyakit pada mencit laboratorium dapat dibatasi dan dihilangkan dengan mempergunakan mencit-mencit yang berasal dari stok yang bebas mikroorganisme (*germ free animals*) atau yang *specific pathogen free* (SPF), dimana hewan ini didapatkan dengan cara bedah caesar (teknik steril tertutup), dipelihara dalam lingkungan tertutup dimana keberadaan kuman-kuman patogen ditekan seminimal mungkin dan diawasi oleh tenaga-tenaga ahli yang khusus, sehingga dapat terjamin kualitasnya (Setijono, 1985)

BAB III

KERANGKA PENELITIAN

3.1 Kerangka Pikir Penelitian

Manusia memiliki sistem pertahanan tubuh yang lengkap untuk menghadapi invasi organisme patogen. Sistem pertahanan tubuh atau sistem imun dibagi menjadi dua yaitu sistem imun non spesifik dan spesifik. Upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya unsur-unsur patogen diantaranya adanya *proliferasi* dan *diferensiasi limfosit* sehingga menjadi sel yang mampu bereaksi dengan unsur-unsur pathogen dan menghancurkan unsur-unsur patogen dengan proses *fagositosis makrofag*.

Secara empiris cincau hitam (*Mesona palustris BL*) dipercaya berkhasiat terhadap kesehatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak *Hsian tsao* sejenis cincau hitam di China diantaranya mengandung senyawa bioaktif *polifenol*, *oleanolic acid*, *ursolic acid* dan *ceffeic acid* yang bersifat *antioksidan*, *antikanker*, *antimutagenik*, *antihipertensi*, *antidiabetes* dan *imunomodulator*. *Imunomodulator* membuat sistem imun tubuh lebih aktif dalam menjalankan fungsinya. Senyawa bioaktif pada cincau hitam dapat bersifat sebagai *imunomodulator* karena mampu meningkatkan *proliferasi* sel *limfosit* (Widyaningsih, 2011).

Pandan wangi (atau biasa disebut pandan saja) adalah jenis tumbuhan monokotil dari famili Pandanaceae yang memiliki daun beraroma wangi yang khas. Daunnya merupakan komponen penting dalam tradisi masakan Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara lainnya. Daun pandan biasa dipakai dalam pembuatan kue atau masakan lain seperti kolak dan bubur kacang hijau dan sewaktu menanak nasi, daun pandan juga kerap diletakkan di sela-sela nasi dengan maksud supaya nasi menjadi beraroma harum (Van Wyk, 2005). Menurut Sugati dan Jhony (1991), daun pandan wangi mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna.

Ekstrak etil asetat daun pandan wangi mengandung senyawa asam lemak dan turunannya (asam palmitat, metil linolenat, asam 9,12-oktadienoat, asam palmitat betamonogliderida, asam linolenat dan etil linolenat), terpenoid (3,7,11,15-tetrametil-2-heksadekena, neofitadiena, fitol, skualena dan γ -cisseskuisiklogeraniol) dan steroid (4 α , 5 α -kolestan 4,5-epoksi, 3,5-dedihidro stigmastan-6,22-dien, stigmastan-3,5-dien, kampesterol, stigmastan- 5,22-dien-3-

ol dan γ -sitosterol). Ekstrak etil asetat tersebut bersifat toksik terhadap benur udang *Artemia salina* Leach. menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta berpotensi sebagai antikanker dan antidiabetes (Sukandar dkk., 2008).

Kayu manis adalah salah satu jenis rempah-rempah yang banyak digunakan sebagai bahan pemberi aroma dan citarasa dalam makanan, minuman, dan bahan aditif pada pembuatan parfum serta obat-obatan (Sundari, 2001). Menurut Prasetyaningrum (2012), dalam industri pangan, minyak atsiri dan oleoresin kayu manis dimanfaatkan sebagai peningkat cita rasa atau aroma. Secara tradisional tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmani*) sering digunakan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia. Kandungan kimia kayu manis terdiri dari minyak atsiri, safrole, sinamadehide, eugenol, tanin, damar, kalsium oksanat, dan zat penyamak. Khasiat dari kayu manis, dapat mengobati tekanan darah tinggi, batuk, asam urat, dan diare (Qauliyah, 2010). Menurut Kannappan *et al.*, (2006) dalam Yulia (2011), ekstrak kulit kayu manis dapat digunakan sebagai antidiabet dan antioksidan.

Salmonella patogenik mempunyai urutan gen invasif (Wilson, 2002), menghasilkan protein yang disekresi oleh bagian khusus untuk menghancurkan epitel. *Salmonella* yang masuk ke dalam saluran cerna akan menembus epitel ilieosekal (Zhang, 2003) dan bermultiplikasi dalam folikel limfoid intestinal (Monack, 2004), kemudian mengikuti aliran limfe memasuki sirkulasi darah menuju organ RES terutama hepar dan limpa serta organ lain sehingga akan menyebabkan perubahan histopatologik organ-organ tersebut. Kemungkinan kedua adalah bakteri mencapai sirkulasi karena terbawa makrofag yang terinfeksi (Irmawati, 2004)

Infeksi *Salmonella* melibatkan limpa sehingga organ tersebut mengalami hiperplasia dan hipertropi, lunak dan membengkak akibat proliferasi limfosit di pulpa merah serta infiltrasi neutrofil dan makrofag ke dalam limpa. Aktivasi limfosit limpa disebabkan oleh respons imun dan peran makrofag serta sel NK dengan dikeluarkannya sitokin seperti IFN γ dan TNF α .

Respons imun terhadap salmonella meliputi sistem imun natural (*innate*) dan sistem imun adaptif (*acquired*) (Ugrinovic, 2003). Sistem imun natural berfungsi untuk mengidentifikasi dan melawan mikroba serta penanda imun adaptif.17 Respons imun natural dimulai dengan pengenalan komponen bakteri seperti LPS dan DNA, diikuti pengambilan dan penghancuran bakteri oleh sel

fagosit yang memfasilitasi proteksi host terhadap infeksi. Peran ini dilakukan oleh makrofag, sel NK, dan neutrofil (Zhang, 2003). Adapun pengeluaran mediator inflamasi berfungsi untuk memperkuat respons imun (Irmawati, 2004).

Makrofag mensekresi IL-1, -6, -8, -12, -15, -18 dan TNF alfa^{31,38,51}. Interleukin -1, -6, dan TNF alfa bekerja sinergis untuk meningkatkan aktivasi sel T dan respons radang akut. Interleukin-8 membantu menarik neutrofil ke tempat infeksi (Santos, 2002). Interleukin -12 mengaktivasi sel NK dan memicu diferensiasi CD4 menjadi Th1. Interleukin -12 juga meningkatkan kemampuan bakterisidal fagosit, meningkatkan IFN γ , dan meningkatkan sintesis NO. Interleukin -15 penting untuk respons inflamasi, fungsi antimikrobal neutrofil, stimulasi CD8 serta perkembangan, *survival*, dan fungsi sel NK. Interleukin -18 menginduksi IFN γ , ko-aktivasi Th1, dan perkembangan sel NK (Wilson, 2002). Makrofag juga mengeluarkan ROI dan RNI yang dapat meningkatkan mekanisme membunuh bakteri. Makrofag mampu menghancurkan bakteri dengan *respiratory burst* yang menghasilkan *reactive oxygen species (ROS)* seperti superoksida, hidrogen peroksidase dan NO (Irmawati, 2004).

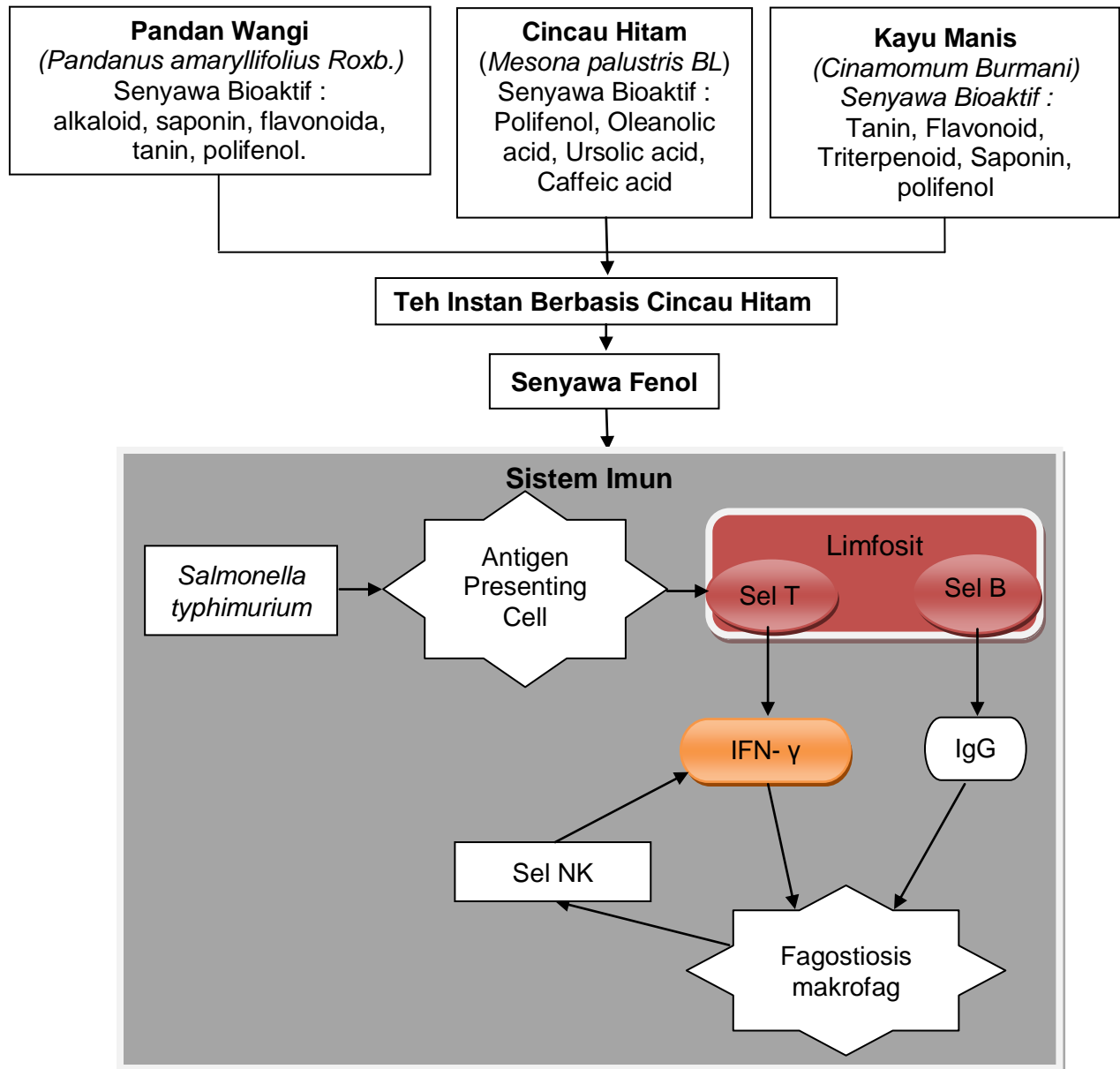
Sel NK berperan sebagai sel sitotoksik atau sitolitik yang dapat menghancurkan sel yang terinfeksi. Sel NK juga memproduksi IFN γ , TNF alfa, dan *granulocyte macrophage colony stimulating factor (GMCSF)*. IFN γ meningkatkan sejumlah reseptor TNF alfa dan transkripsi mRNA. Sebaliknya TNF alfa dibutuhkan untuk produksi IFN γ . IFN γ meningkatkan respons CMI dengan mengaktivasi makrofag dan menginduksi diferensiasi sel Th menjadi Th1. Sel NK berperan sebagai jembatan antara imunitas alami dan imunitas adaptif, memodulasi hematopoiesis, dan meningkatkan granulosit makrofag (Irmawati, 2004).

Neutrofil mampu menghasilkan *oxidative burst* seperti makrofag yang berkontribusi dalam membunuh bakteri. Nitrit oksida (NO) diproduksi bersama dengan L-sitruilin melalui oksidasi enzimatik dari L-arginin. Produksi NO distimulasi oleh IFN γ , TNF alfa, IL-1 dan IL-2. Nitrit oksida merupakan implikasi respons terhadap bakteri intraseluler seperti *Salmonella* yang tercermin dengan melimpahnya NO di bagian luar fagosom. Antara ROI dan NO dapat berinteraksi dengan membentuk spesies antimikroba yang lebih toksik seperti peroksi-nitrit yang dapat meningkatkan daya bunuh makrofag terhadap *Salmonella* (Irmawati, 2004).

Sementara itu pada imun adaptif sel yang berperan adalah APC, sel T dan sel B (Ugrinovic, 2003). Sel dendritik merupakan APC yang penting dalam inisiasi respons imun yang diperantarai sel T dan bersama dengan makrofag mempresentasikan antigen yang diproses dari bakteri intrasel gram negatif seperti *Salmonella* (Torres, 2008).

Pada infeksi bakteri intraseluler dan virus pada sediaan apus darah tepi dapat terlihat limfosit atipik / teraktivasi dengan limfosit yang lebih besar dan reaktif, sitoplasma lebih lebar, warna lebih biru atau abu-abu, inti oval, bentuk ginjal atau *lobulated*, kadang kadang terdapat anak inti dan kromatin lebih kasar.⁸ Faktor yang berperan dalam perubahan sel Th adalah limfokin yang mengaktifkannya. Jika berupa IL-2 dan IFN γ , yang berkembang adalah Th1 dan akan menekan Th2. Sebaliknya jika IL-4 yang dikeluarkan, maka Th2 yang akan berkembang. Diferensiasi sel Th juga dipengaruhi jenis APC, jika APC-nya makrofag (sumber IL-12), yang akan berkembang adalah Th1, tetapi jika APC-nya sel B, yang berkembang Th2 (Torres, 2008).

Sel T diperlukan untuk ekspresi penuh imunitas terhadap *Salmonella*. Sel T dengan *Cluster designation 4* (CD4) berfungsi dalam membantu aktivasi dan diferensiasi sel B. Selain membantu sel B membentuk antibodi, juga membantu pembentukan CD8 spesifik salmonella dan pengaturan pembentukan granuloma untuk membatasi penyebaran bakteri. *Cluster designation 8* (CD8) ini dapat melisis sel yang terinfeksi dan memproduksi sitokin yang dibutuhkan untuk pengerahan dan aktivasi fagosit⁵³. Ketika distimulasi, CD4 akan memproduksi IL-2 yang dibutuhkan sel T untuk berkembang menjadi Th. Defisiensi CD4 menyebabkan terjadinya infeksi kronis, sedangkan pada defisiensi sel B masih mampu mengontrol dan mengeliminasi infeksi *Salmonella*. Jadi dapat disimpulkan bahwa CD4 juga berperan untuk mengaktivasi fagosit dan bukan sekedar memberi bantuan sel B (Torres, 2008).



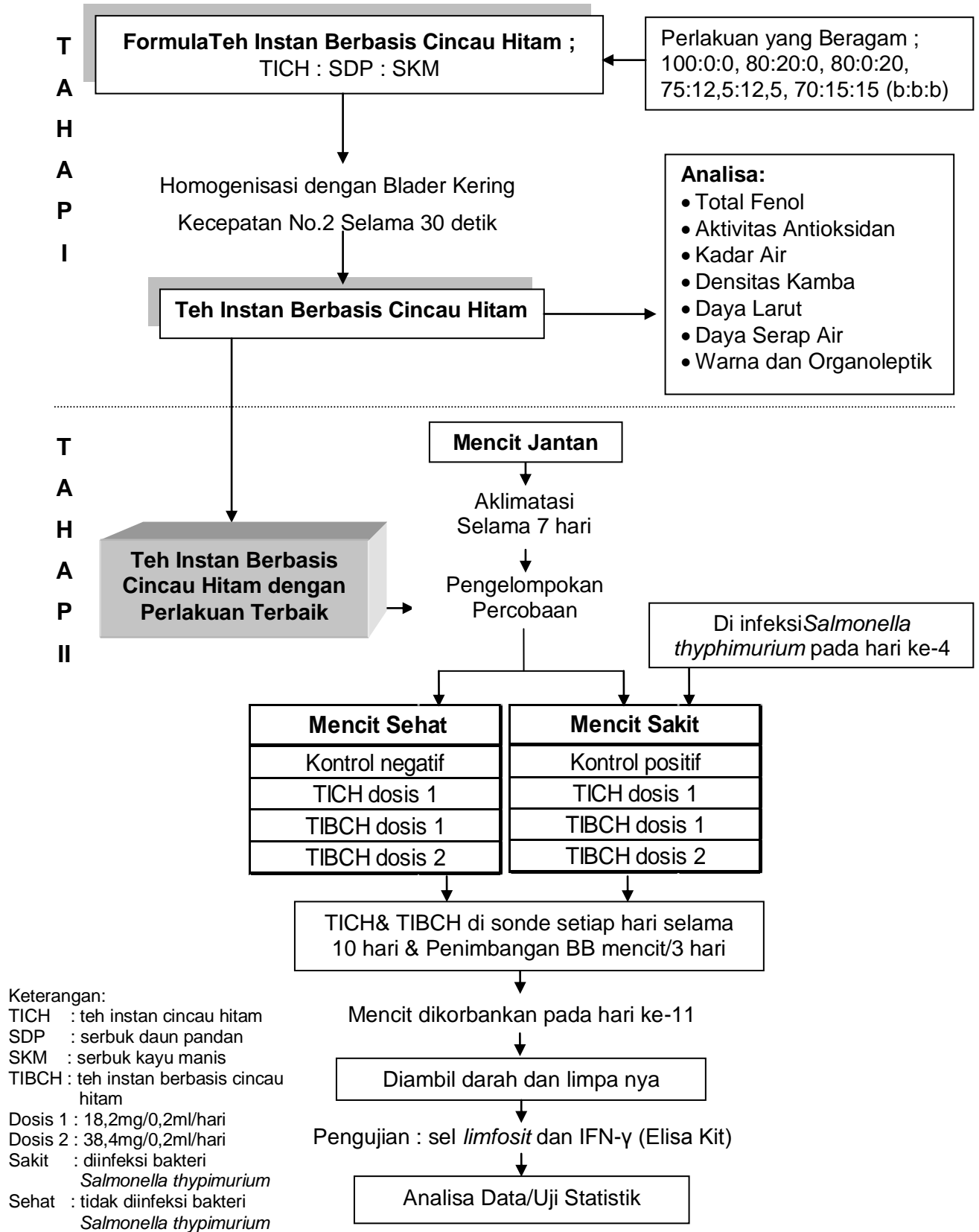
Gambar 8. Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

- Perbedaan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula teh instan berbasis cincau hitam (*Mesona palustris* BL) berpengaruh terhadap karakteristik teh instan berbasis cincau hitam (*Mesona palustris* BL).
- Formula teh instan berbasis cincau hitam (*Mesona palustris* BL) dari perlakuan terbaik berpengaruh terhadap aktivitas sistem imun dengan indikator jumlah sel *limfosit* dan *IFN- γ* .

3.3 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 9. Kerangka Operasional Penelitian

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Biokimia dan Nutrisi Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, dan Laboratorium Biomedik fakultas Kedokteran Universitas Berawijaya. Penelitian ini dimulai bulan Juli sampai dengan bulan September 2012.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1 Bahan

Bahan utama untuk pembuatan teh instan berbasis cincau hitam dan Flavouring Agent adalah simplisia kering dari tanaman cincau hitam (daun, ranting dan batang) yang diperoleh dari Magetan, daun pandan yang diperoleh dari Malang dan kayu manis yang dibeli dari Malang.

Bahan lain yang digunakan adalah bahan untuk:

- bahan pengisi: dekstrin
- analisa aktivitas antioksidan dan total fenol (fisikokimia) serta organoleptik: kertas saring, indikator pp, dan aquades, NaOH, larutan 1,1-diphenil-2-picrylhydrazil (DPPH) 0,2 M, BHT, asam askorbat, larutan buffer asetat, buffer fosfat, asal linoleat, amonium tiosianat, ferri klorida, HCl dan etanol 95%, etanol, air deion, pereaksi folin ciocalteu 50%, Na₂CO₃ 5%, asam galat.
- analisa kadar IFN- γ : plasma darah mencit, mouse IFN- γ ELISA Kit K3231083 dari Komabiotech.
- Jumlah sel limfosit: medium RPMI, *Tris Buffered Ammonium Chloride*, dan FBS.

4.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat untuk :

- pembuatan teh instan cincau hitam dan *Flavouring Agent* : *Beaker glass*, kain saring, timbangan instrumen M-130, blender kering, kompor listrik, termometer, evaporator, pengering, dan stopwatch.
- analisis fisiko-kimia dan organoleptik produk teh instan berbasis cincau hitam: neraca analitik, kertas saring, refraktometer, *colour reader*, pompa vakum, corong Buchner, cawan porselen, cawan alumunium, *vortex-mixer*, kaca

arloji, oven kering, desikator, stoples kaca, spektrofotometer serta peralatan gelas dan sendok.

- analisa IFN- γ : tabung sentrifuse steril 15 ml disposable, mikropipet, mikrotip, vorteks, dan Spektrophotometer Microplate Reader, ELISA Reader, tabung ependorf, Otoklaf dan alat-alat gelas steril.
- Jumlah sel limfosit: tabung sentrifuse steril 10 ml disposable, mikropipet, mikrotip, vorteks, dan hemositometer, tabung ependorf, freezer dan alat-alat gelas steril.
- pemeliharaan mencit dan pembedahan: kandang tikus, gunting pembedahan, pinset, sonde, dan alat suntik syringe.

4.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terbagi dalam dua tahapan. Tahap I bertujuan untuk mendapatkan proses pembuatan teh instan cincau hitam, serbuk *Flavouring Agent* dari daun pandan dan kayu manis serta mendapatkan formula teh instan berbasis cincau hitam yang memiliki nilai fisiko-kimia dan organoleptik terbaik. Hasil terbaik dari penelitian tahap I ini akan digunakan sebagai bahan untuk penelitian tahap II. Penelitian tahap II ini bertujuan untuk mengetahui efek imunomodulator (sel *limfosit* dan IFN- γ) dari teh instan berbasis cincau hitam pada mencit balb/c yang diinfeksi dengan bakteri *Salmonella typhimurium*.

4.3.1 Penelitian Tahap I : Pembuatan Teh Instan Cincau Hitam, Serbuk *Flavouring Agent* dari Daun Pandan dan Kayu Manis serta Pembuatan Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam

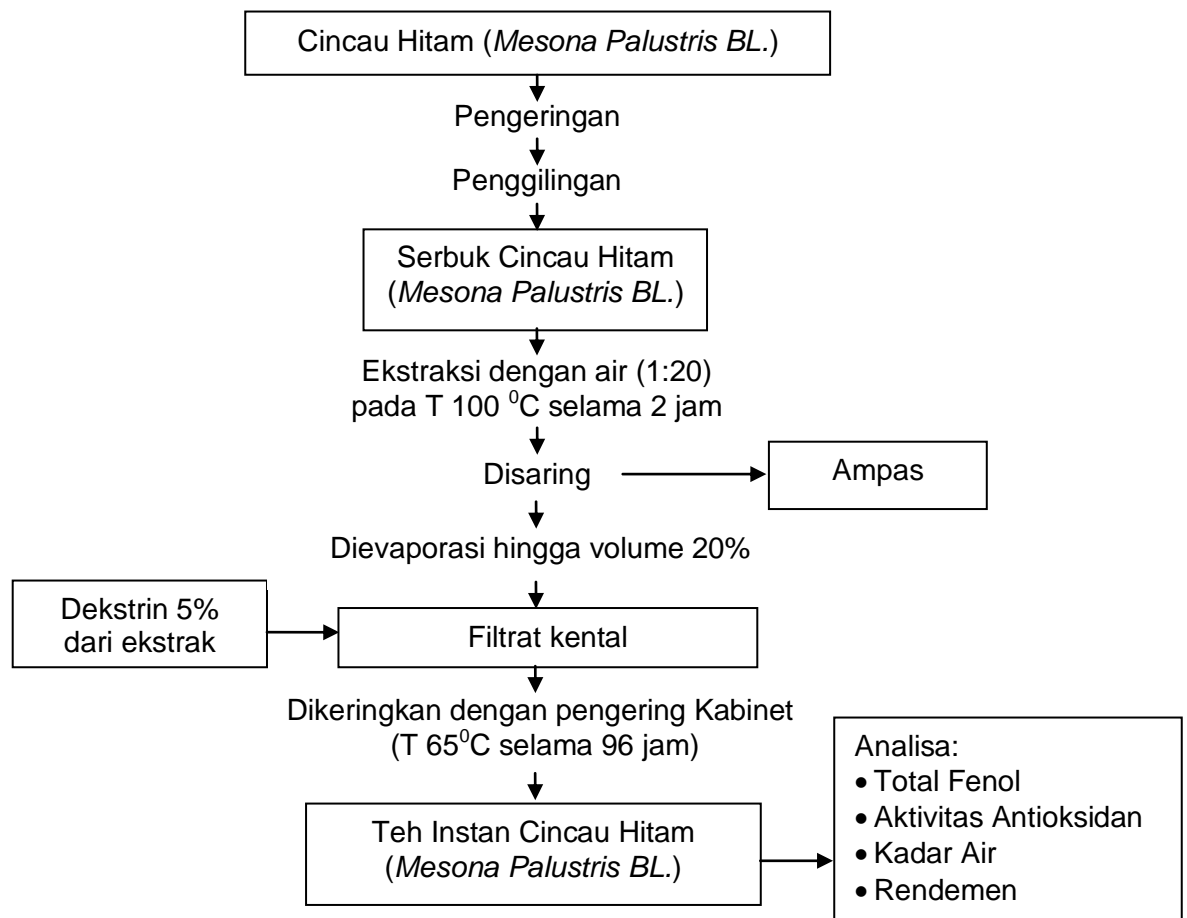
a. Pembuatan Teh Instan Cincau Hitam, Serbuk *Flavouring Agent* dari Daun Pandan dan Kayu Manis

○ Pembuatan Teh Instan Cincau Hitam

Pembuatan teh instan cincau hitam dilakukan berdasarkan pada beberapa penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tanjung (1987), Sharief (2006), Nurdin (2012) yang dimodifikasi. Proses dimulai dengan penggilingan simplisia cincau hitam dengan menggunakan blender kering hingga halus yang bertujuan untuk memperluas permukaan simplisia. Dilakukan ekstraksi/ penyeduhan simplisia dengan air menggunakan perbandingan 1 : 20 (w/v) (Tanjung, 1987) yang bersuhu 100°C dengan lama waktu 2 jam (Sharief, 2006). Ekstrak cincau hitam disaring dan dipres dengan alat pengepres untuk memisahkan ampas dan filtrat. Larutan tersebut kemudian dievaporasi hingga volume 20%, ditambahkan dengan bahan pengisi dekstrin dengan konsentrasi

5% (Nurdin, 2012) yang kemudian dikeringkan menggunakan pengering kabinet.

Hasil dari pengeringan diperoleh teh instan cincau hitam yang kemudian dilakukan analisis fisiko-kimia yang meliputi: Total Fenol Metode Folin-ciocalteu (Huang dan Yen, 2002), Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Tang et.,al,2002) dalam Suryanto (2005), Kadar Air (Sudarmadji, 1997), Rendemen (AOAC, 1984), Densitas Kamba (AOAC, 1984), Daya larut (AOAC, 1984), Daya Serap Air (Yuwono, 2001), dan Warna (Colour Reader).



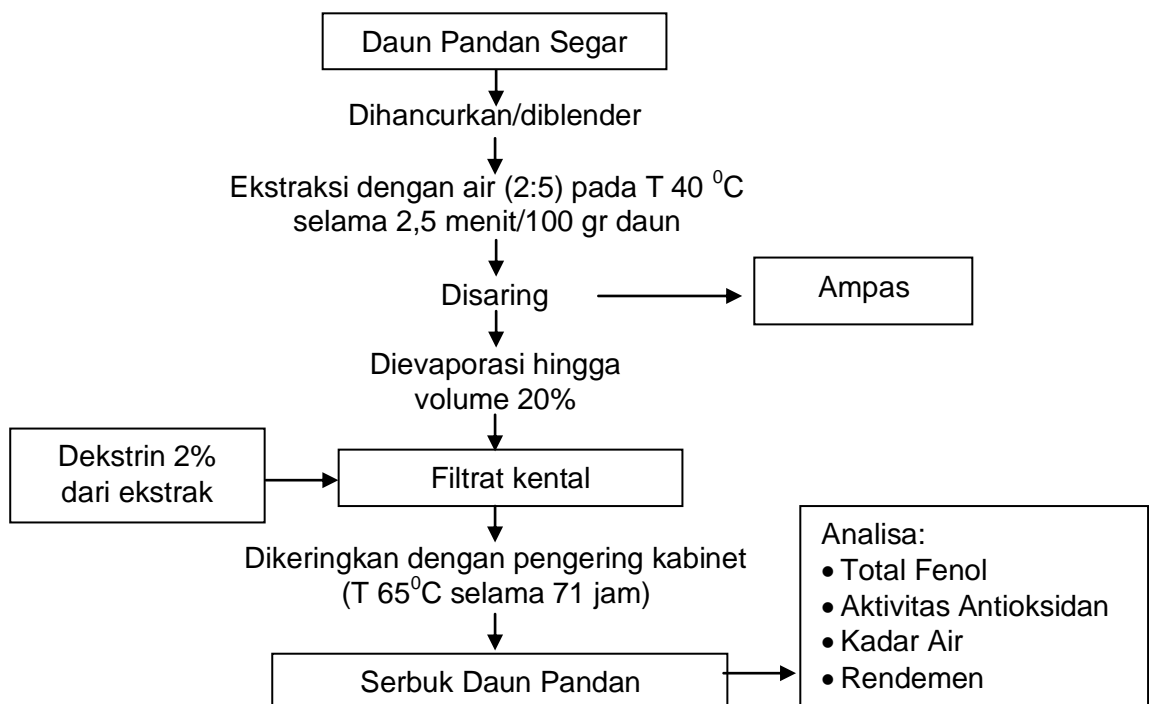
Gambar 10. Pembuatan Teh Instan Cincau Hitam (Nurdin, 2012)

o Pembuatan Serbuk Daun Pandan

Pembuatan serbuk daun pandan dilakukan berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Listyawati. Daun pandan segar dihancurkan dan diblender ditambahkan air (suhu 40°C) dengan perbandingan 2:5 (b/v), disaring dan dipres dengan alat pengepres untuk memisahkan ampas dan filtrat. Larutan tersebut kemudian dievaporasi hingga volume 20%,

ditambahkan bahan pengisi (dekstrin 2%) setelah itu dikeringkan dengan pengering kabinet.

Hasil dari pengeringan diperoleh serbuk daun pandan kemudian dilakukan analisis fisiko-kimia yang meliputi: Total Fenol Metode Folin-ciocalteu (Huang dan Yen, 2002), Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Tang et.,al,2002) dalam Suryanto (2005), Kadar Air (Sudarmadji, 1997), Rendemen (AOAC, 1984), Densitas Kamba (AOAC, 1984), Daya larut (AOAC, 1984), Daya Serap Air (Yuwono, 2001), dan Warna (Colour Reader).



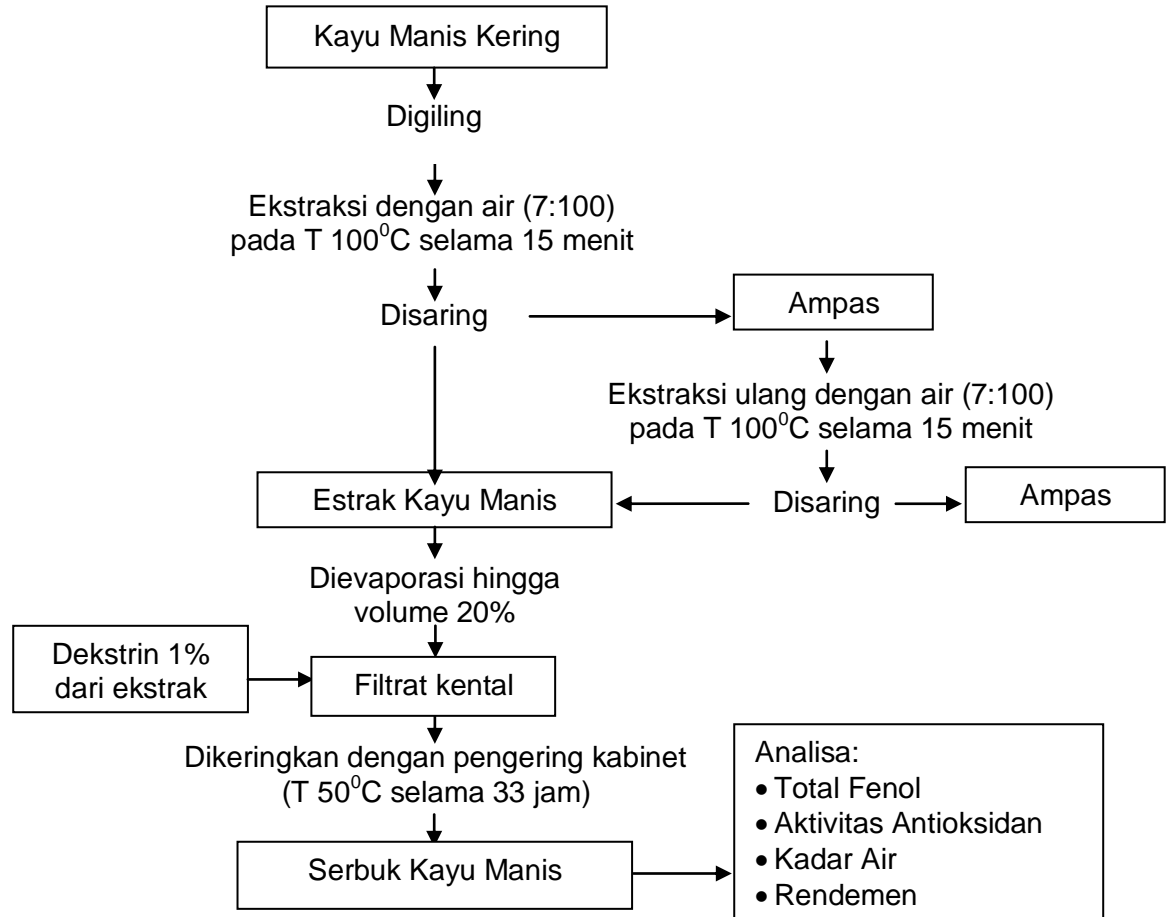
Gambar 11. Pembuatan Serbuk Daun Pandan (listyawati)

o Pembuatan Serbuk Kayu Manis

Pembuatan serbuk kayu manis dilakukan berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Handayani. Kayu manis kering dihancurkan dan diblender dengan blender kering, kemudian ditambahkan air dengan perbandingan 7:100 (b/v), disaring dan dipres dengan alat pengepres untuk memisahkan ampas dan filtrate (diulang 2 kali). Larutan tersebut kemudian dievaporasi hingga volume 20%, ditambahkan bahan pengisi (dekstrin 1%) setelah itu dikeringkan dengan pengering kabinet.

Hasil dari pengeringan diperoleh serbuk kayu manis kemudian dilakukan analisis fisiko-kimia yang meliputi: Total Fenol Metode Folin-ciocalteu (Huang dan Yen, 2002), Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Tang et.,al,2002) dalam

Suryanto (2005), Kadar Air (Sudarmadji, 1997), Rendemen (AOAC, 1984), Densitas Kamba (AOAC, 1984), Daya larut (AOAC, 1984), Daya Serap Air (Yuwono, 2001), dan Warna (Colour Reader).



Gambar 12. Pembuatan Serbuk Kayu Manis (Handayani)

b. Pembuatan Teh Instan berbasis Cincau Hitam

- Langkah-langkah pembuatan teh instan berbasis cincau hitam adalah sebagai berikut:

- Pencampuran bahan

Pencampuran teh instan cincau hitam dengan serbuk *Flavouring Agent* (daun pandan dan kayu manis) sesuai perlakuan. Pemberian *Flavouring Agent* bertujuan agar produk teh instan berbasis cincau hitam memiliki cita rasa dan aroma serta dapat menambah nilai fungsional nya.

- Homogenisasi

Mampuran bahan-bahan dihomogenisasi menggunakan blender kering selama 30- 60 detik. Homogenisasi bertujuan agar bahan-bahan dapat bercampur secara merata serta membentuk suspensi yang homogen dan

stabil dari campuran bahan sehingga memiliki penampakan dan mutu yang lebih baik.

Tabel 6. Formula Teh Instan Berbasis Cincau Hitam

Perlakuan	Bahan (%)		
	Teh Instan Cincau Hitam	Serbuk Daun Pandan	Serbuk Kayu Manis
F1	100	0	0
F2	80	20	0
F3	80	0	20
F4	80	10	10
F5	75	12,5	12,5
F6	70	15	15

o Pengamatan dan Analisis

Hasil dari pencampuran yang telah dihomogenisasi (teh instan berbasis cincau hitam) tersebut kemudian dilakukan pengamatan dan analisis fisiko-kimia serta uji organoleptik. Analisis tersebut terdiri atas :

a) Analisis Kimia

- Total Fenol Metode Folin-ciocalteu (Huang dan Yen, 2002)
- Aktivitas Antioksidan IC_{50} (Hatano, 1998)
- Kadar Air (Sudarmadji, 1997)

b) Analisis Fisik

- Densitas Kamba (AOAC, 1984)
- Daya larut (AOAC, 1984)
- Daya Serap Air (Yuwono, 2001)
- Warna (Colour Reader)

c) Uji Organoleptik

- Uji Hedonik (Soekarto, 1990)

o Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan Analisis Sidik Ragam (*Anova*) kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan (selang kepercayaan 5%) dengan menggunakan *software* SPSS Statistic 16.0. Penentuan perlakuan terbaik dengan menggunakan metode pembobotan (de Garmo *et al.*, 1984).

4.3.2 Penelitian Tahap II : Pengujian Teh Instan berbasis Cincau Hitam Perlakuan Terbaik terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Hewan Coba

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental murni dengan pendekatan *the post test only control group design* yang menggunakan mencit sebagai obyek penelitian. Parameter pengukuran variabel berupa jumlah sel *Limfosit* pada organ *limpa* dan jumlah *Interferon γ* pada serum darah.

a. Persiapan Hewan Coba

Mencit ditempatkan pada kandang plastik yang berjeruji ukuran 15 x 30 x 50 cm yang diberi sekat sehingga setiap mencit mempunyai ruangan sendiri-sendiri tidak saling bercampur. Alas diberi serbuk kayu yang berfungsi untuk menyerap kotoran mencit dan setiap hari dilakukan pembersihan dan pengantian serbuk. Kandang selalu dalam kondisi bersih dan ditempatkan pada ruangan dengan sirkulasi udara yang cukup. Setiap mencit diberi tanda dengan warna pada ekor, kaki, kepala, dan bagian tubuh lainnya guna memudahkan pengenalan. Kriteria inklusi adalah mencit jantan, umur 8-10 minggu, berat 20 – 30 gram, sehat dan tidak tampak cacat secara anatomi, dilakukan aklimatisasi selama 7 hari dengan diberi pakan pelet BR1 produksi PT. Comfeed Sidoarjo (komposisi kadar air max. 12%, protein kasar min. 21%, lemak kasar min. 4%, serat kasar max. 4,5%, kalsium 0,9-1,1%, fosfor 0,7-0,9%) dan minum air dalam botol secara *adlibitum*.

b. Pengelompokan dan Percobaan pada Hewan Coba

Percobaan pada hewan mencit ini terdapat 8 kelompok perlakuan yang dibagi menjadi 2 kelompok percobaan, dimana kelompok I merupakan percobaan aktivitas sistem imun pada mencit sehat (tanpa infeksi *Salmonella typhimurium*) yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan dan kelompok II merupakan percobaan aktivitas sistem imun pada mencit sakit (di infeksi *Salmonella typhimurium*) yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan. Jumlah dan hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini telah melalui uji “*ETHICAL CLEARENCE*” di depan Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dan dinyatakan Laik Etik (Lampiran 20).

Penentuan besar sampel menurut rumus Federer, yaitu:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

t = jumlah kelompok perlakuan

Dari rumus dapat dilakukan perhitungan besar sampel sebagai berikut:

$t = 8$, maka didapatkan

$$(n-1) (8-1) \geq 15$$

$$(n-1) 7 \geq 15$$

$$(n-1) \geq 2,14$$

$$n \geq 3,14$$

$$n = 4$$

Hasil perhitungan di atas, jumlah mencit yang akan dijadikan sampel penelitian sebanyak 4 ekor untuk tiap kelompok, dengan jumlah total 32 ekor untuk 8 kelompok perlakuan.

Adapun dosis cairan teh instan berbasis cincau hitam dan ekstrak cincau hitam yang diberikan disetarakan dengan dosis pada manusia dengan berat badan 70 kg dikalikan konstanta uji terapi pada hewan coba (mencit) yaitu 0,0026 (Lampiran 21).

Dosis yang diberikan pada masing-masing kelompok:

Dosis 1 : dihitung berdasarkan konsumsi manusia teh instan :

7 g untuk 70 Kg BB dikonversi ke mencit 0,0026 untuk 20 g

$$= 7 \text{ g} \times 0,0026 = 0,0182 \text{ g} = 18,2 \text{ mg} / 20 \text{ g mencit}$$

$$= 18,2 \text{ mg} / 0,2 \text{ ml} = 91 \text{ mg/ml}$$

Dosis 2 : $2 \times \text{dosis1} = 36,4 \text{ mg} / 20 \text{ g mencit}$

Pembagian 8 kelompok tersebut yaitu :

- | | |
|---------------------|---|
| Kontrol negative | : mencit tanpa infeksi Salmonella typhimurium, tanpa perlakuan cincau hitam |
| Kontrol positif | : mencit diinfeksi Salmonella typhimurium tanpa perlakuan serbuk ekstrak cincau hitam |
| TICH dosis 1 sehat | : mencit tanpa infeksi Salmonella typhimurium dengan perlakuan teh instan cincau hitam dosis 1. |
| TICH dosis 1 sakit | : mencit diinfeksi Salmonella typhimurium dengan perlakuan teh instan cincau hitam dosis 1. |
| TIBCH dosis 1 sehat | : mencit tanpa infeksi bakteri Salmonella typhimurium dengan perlakuan teh instan berbasis cincau hitam dosis 1 |
| TIBCH dosis 1 sakit | : mencit diinfeksi bakteri Salmonella typhimurium dengan perlakuan teh instan berbasis cincau hitam dosis 1. |

TIBCH dosis 2 sehat : mencit **tanpa** infeksi bakteri *Salmonella typhimurium* **dengan** perlakuan teh instan berbasis cincau hitam dosis 2.

TIBCH dosis 2 sakit : mencit **diinfeksi** bakteri *Salmonella typhimurium* **dengan** perlakuan teh instan berbasis cincau hitam dosis 2

c. Prosedur pengumpulan data

Cara pengumpulan data meliputi langkah-langkah sebagai berikut:

- a) Sampel diadaptasikan selama 1 minggu di laboratorium dan diberi pakan standar
- b) Dilakukan pengelompokan dengan acak sederhana, 32 ekor mencit dibagi dalam 8 kelompok.
- c) Masing-masing kelompok diberikan pakan standar dengan perlakuan yang sudah ditentukan selama 10 hari dan di injeksi *Salmonella typhimurium* secara intraperitoneal pada hari ke-4 dengan dosis yang sudah ditetapkan.
- d) Pada hari ke-11 semua mencit diambil darah dan limpa nya untuk pemeriksaan jumlah *sel limfosit* dan *Interferon gamma* dengan menggunakan Elisa Kit.

d. Analisa data

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan Analisis Sidik Ragam (*Anova*) kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan (selang kepercayaan 5%) dengan menggunakan *software* SPSS Statistic 16,0.

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Analisa Bahan Pembuat Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Bahan yang digunakan dalam pembuatan teh instan berbasis cincau hitam adalah teh instan cincau hitam, serbuk pandan wangi, dan serbuk kayu manis. Parameter bahan-bahan yang di analisa meliputi total fenol, uji antioksidan (IC_{50}), kadar air, dan rendemen. Hasil analisis pada bahan pembuat teh instan berbasis cincau hitam dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Analisa Bahan Pembuat Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Parameter	Bahan		
	TICH	SDP	SKM
Total Fenol (%)	4,02	5,44	7,93
IC_{50} (ppm)	156,94	234,00	41,53
Kadar Air (%)	1,80	2,00	2,00
Rendemen (%)	53,89	6,41	31,47

Keterangan : TICH:Teh Instan Cincau Hitam, SDP:Serbuk Daun Pandan, SKM:Serbuk Kayu Manis

Berdasarkan hasil analisa (Tabel 7) yang dilakukan pada bahan pembuat teh instan berbasis cincau hitam memiliki nilai parameter yang variatif, dimana parameter total fenol tertinggi terdapat pada serbuk kayu manis yaitu 7,93%.

Parameter antioksidan (IC_{50}) terkuat juga terlihat pada bahan serbuk kayu manis dengan nilai 41,53 ppm. Menurut Evita (2004), secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm.

Parameter kadar air dari ketiga bahan tersebut memiliki nilai yang tidak jauh berbeda (1,80-2,00%), dimana hal ini sesuai dengan kriteria yang ditetapkan SNI 7707:2011 bahwa kadar air maksimal dari produk teh instan adalah sebesar 5 %.

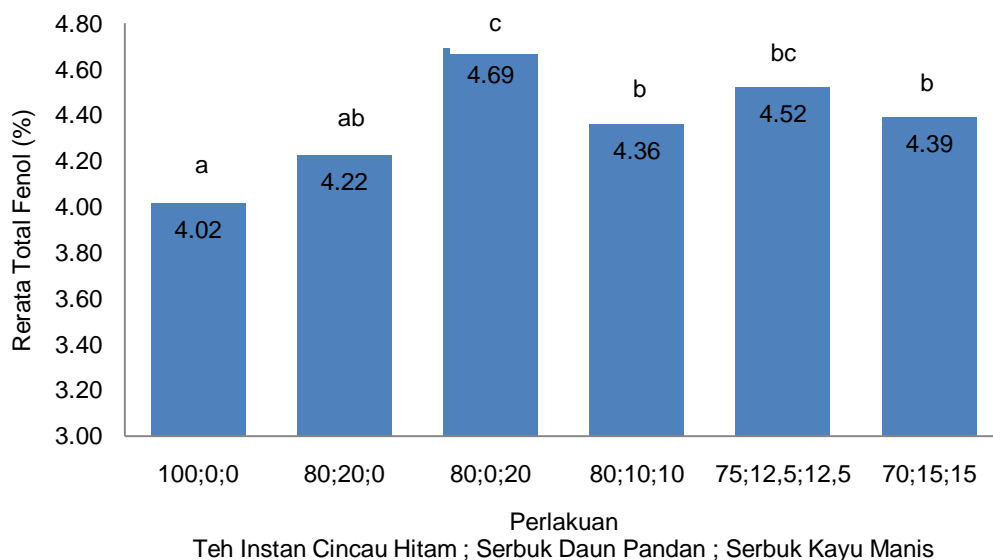
Hasil analisa untuk parameter rendemen dari bahan pembuat teh instan berbasis cincau hitam berkisar antara 6,41 – 53,89%. Nilai tertinggi dari ketiga bahan tersebut ada pada teh instan cincau hitam (53,89%) yang pada proses nya ditambahkan bahan pengisi (dekstrin) sebesar 5% dari ekstrak. Menurut Nurdin (2012), semakin besar jumlah bahan pengisi yang ditambahkan pada pembuatan teh instan cincau hitam maka akan besar pula nilai rendemen yang di dapat, dimana peningkatan total rendemen tersebut menunjukkan bahwa bahan pengisi dapat berfungsi sebagai penambah massa.

5.2 Analisa Teh Instan berbasis Cincau Hitam

5.2.1 Analisis Fisiko-Kimia

5.2.1.1 Total Fenol

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar total fenol teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 4,02 – 4,69%. Hasil analisa ragam (Lampiran 4), menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap kadar total fenol teh instan berbasis cincau hitam. Berdasarkan uji lanjut dengan uji Duncan ($\alpha = 0,05$) beberapa formula perlakuan tersebut juga memberikan perbedaan yang nyata. Rerata kadar total fenol teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 13.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
Nilai yang disertai dengan notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

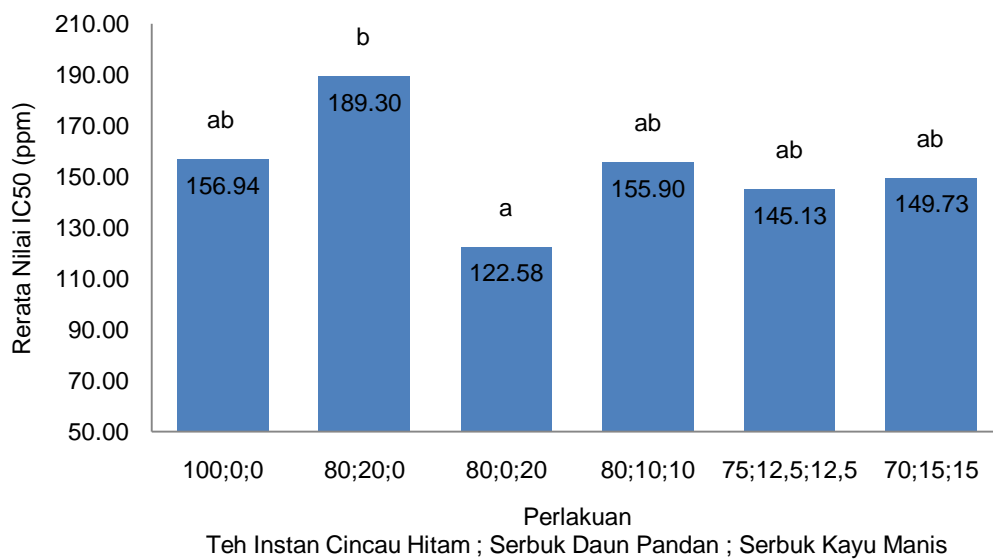
Gambar 13. Grafik Rerata Kadar Total Fenol (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Pada Gambar 13 menunjukkan bahwa rerata kadar total fenol tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 0% dan serbuk kayu manis 20% yaitu 4,69%. Sedangkan rerata kadar total fenol terendah diperoleh pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 20% dan serbuk kayu manis 0% yaitu sebesar 4,02%.

Rerata kadar total fenol teh instan berbasis cincau hitam cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya penambahan serbuk kayu manis. Hal ini disebabkan karena serbuk kayu manis memiliki kadar total fenol yang lebih tinggi (7,93%) dibandingkan kadar total fenol dari teh instan cincau hitam (4,02%) maupun serbuk daun pandan (5,44%). Menurut Prasetyaningrum (2011), minyak atsiri dan oleoresin yang terdapat pada kayu manis memiliki kandungan senyawa fenol dimana oleoresin menunjukkan total fenol tertinggi. Menurut Purseglove *et al.* (1991) dalam kulit kayu manis mengandung beberapa senyawa polifenol seperti kumarin dan eugenol. Hal ini diperkuat oleh pendapa Ferdiana (2004), yang menyatakan kumarin yang ada pada kayu manis juga mengandung gugus fenol dan penting untuk memberi ciri khas flavor alami kayu manis.

5.2.1.2 Aktivitas Antioksidan (IC_{50})

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 122,58 – 189,30 ppm. Hasil analisa ragam (Lampiran 5), menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}). Berdasarkan uji lanjut dengan uji Duncan ($\alpha = 0,05$) beberapa formula perlakuan tersebut juga memberikan perbedaan yang nyata. Rerata nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 14.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
 Nilai yang disertai dengan notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Gambar 14. Grafik Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Teh Instan berbasis Cincou Hitam

Pada Gambar 14 menunjukkan bahwa rerata nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) terendah diperoleh pada perlakuan dengan formula teh instan cincou hitam 80%, serbuk daun pandan 0% dan serbuk kayu manis 20% yaitu 122,58 ppm. Sedangkan rerata nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan formula teh instan cincou hitam 80%, serbuk daun pandan 20% dan serbuk kayu manis 0% yaitu sebesar 189,30 ppm.

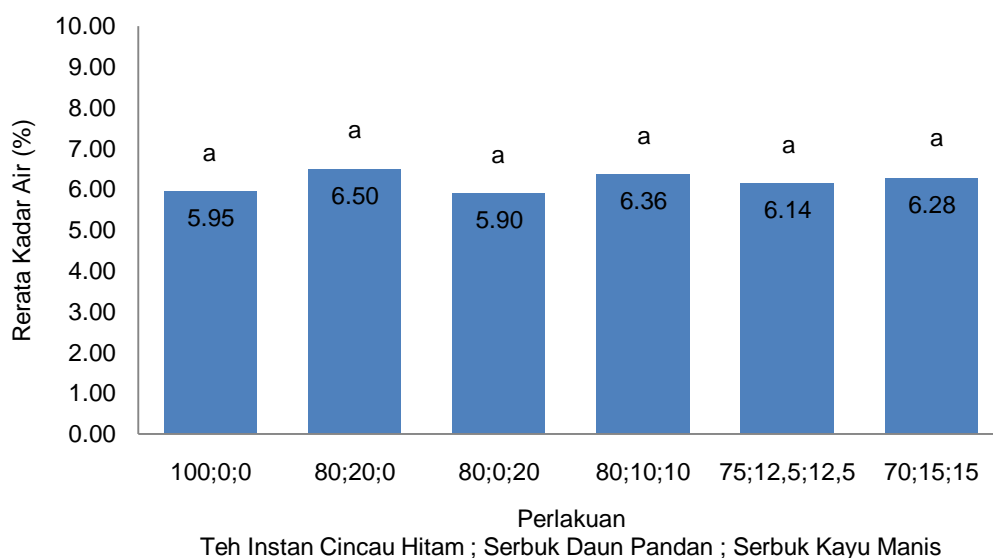
Rerata nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) teh instan berbasis cincou hitam cenderung mengecil seiring dengan meningkatnya penambahan serbuk kayu manis. Hal ini disebabkan karena serbuk kayu manis memiliki nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) yang sangat kuat (41,53 ppm) dibandingkan dengan nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) teh instan cincou hitam (156,94 ppm) maupun serbuk daun pandan (234,00 ppm). Senyawa fitokimia yang berperan sebagai antioksidan pada kayu manis salah satunya adalah tanin dan flavonoid (Astawan, 2009). Menurut Ekaprasada (2009), ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume) memiliki kandungan kadar trans-sinamaldehyd yang cukup tinggi (68,65%) yang menjadi sumber senyawa antioksidan dengan kemampuannya menangkap radikal bebas atau *radical scavenger*. Senyawa sinamaldehyd dan *linalool* yang terdapat dalam kayu manis telah dilaporkan sebagai salah satu senyawa antioksidan (Saleh *et.al*, 2010). Hal ini diperkuat oleh pendapat Prasetyaningrum (2011), menyatakan bahwa

senyawa sinamaldehyd yang termasuk dalam golongan fenilpropanoid merupakan turunan senyawa fenol, dimana senyawa fenol tersebut juga berperan penting dalam aktivitas antioksidan.

Menurut Sikorska and Matlawska (2008) dalam Cavalcante *et al.* (2010) dalam Kiessoun *et al.* (2010) antioksidan alami banyak berasal dari berbagai macam jenis tumbuhan, sebagian besar tumbuhan tersebut diketahui memiliki kandungan senyawa golongan fenol. Senyawa golongan fenol diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenolnya maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Kiessoun *et al.*, 2010; Shahwar *et al.*, 2010).

5.2.1.3 Kadar Air

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar air teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 5,90 – 6,50%. Hasil analisa ragam (Lampiran 6), menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap kadar air. Rerata kadar air teh instan berbasis cincau hitam akibat pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 15.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
 Nilai yang disertai dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Gambar 15. Grafik Rerata Kadar Air (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

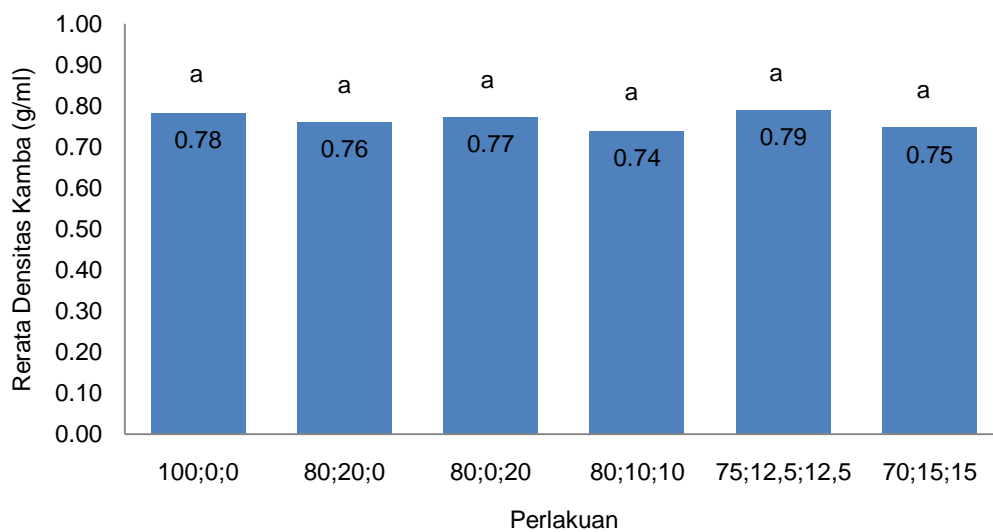
Pada Gambar 15 menunjukkan bahwa rerata kadar air semua produk teh instan berbasis cincau hitam dalam penelitian ini lebih besar dari pada kadar air bahan pembuatnya (teh instan cincau hitam, serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis). Hal ini disebabkan pada saat pembuatan produk teh instan berbasis cincau hitam yakni pada saat pencampuran serbuk/bahan dasar sesuai formula terjadi penyerapan air dari udara oleh bahan yang memiliki kadar air rendah sehingga bersifat higroskopis.

Menurut Nurdin (2012), pada produk bubuk dengan kandungan kadar air yang rendah akan memiliki daya rehidrasi yang lebih tinggi sehingga bubuk tersebut akan lebih cepat larut, dengan demikian kadar air yang rendah lebih diinginkan pada produk instan. Selain itu juga kadar air yang lebih rendah akan menghasilkan produk instan yang lebih kering (Tanjung, 1987). Kadar air dari suatu produk pangan berkaitan erat dengan masa simpan dan keawetan dari produk tersebut. Produk-produk yang berkadar air lebih rendah relatif lebih tahan lama bila dibandingkan dengan produk yang memiliki kadar air tinggi (Lindawati, 1992).

5.2.1.4 Densitas Kamba

Densitas kamba merupakan salah satu sifat fisik bahan pangan yang perlu diketahui terutama untuk tujuan pengemasan, penyimpanan dan pengangkutan. Bahan pangan yang mempunyai densitas kamba kecil membutuhkan tempat yang lebih besar bila dibandingkan dengan bahan yang mempunyai densitas kamba besar (Widowati, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan rerata nilai densitas kamba teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 0,74 – 0,79 g/ml. Hasil analisa ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai densitas kamba. Rerata nilai densitas kamba teh instan berbasis cincau hitam akibat pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 16.



Teh Instan Cincau Hitam ; Serbuk Daun Pandan ; Serbuk Kayu Manis

Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan

Nilai yang disertai dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Gambar 16. Grafik Rerata Nilai Densitas Kamba (g/ml) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Pada Gambar 16 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak berpengaruh terhadap nilai densitas kamba teh instan berbasis cincau hitam. Hal ini karena bahan pembuat teh instan berbasis cincau hitam (teh instan cincau hitam, serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis) masing perlakuan memiliki formula yang tidak jauh berbeda, serta bentuk dan ukuran nya yang juga tidak jauh berbeda, sehingga nilai densitas kamba yang diperoleh dari masing-masing perlakuan tidak jauh berbeda. Menurut Widowati (2010), Densitas kamba dinyatakan dengan perbandingan antara berat bahan dengan volume bahan (g/ml) itu sendiri dipengaruhi oleh jenis bahan, kadar air, bentuk dan ukuran bahan.

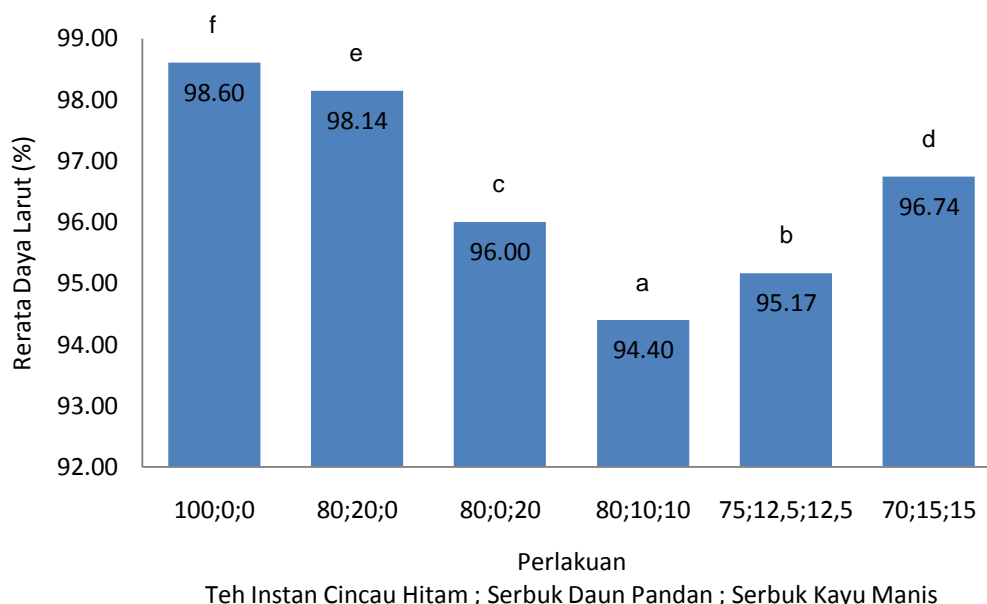
Menurut Tanjung (1987), pada umumnya industri menginginkan produk dengan nilai densitas kamba yang kecil, dengan nilai densitas yang kecil dapat diartikan massa yang sedikit dapat menempati ruang yang besar. Peranan densitas kamba terutama berkaitan dengan pengemasan, yaitu semakin besar densitas kamba maka kemasan yang diperlukan semakin kecil untuk sejumlah berat yang sama (Lindawati, 1992).

5.2.1.5 Daya Larut

Daya larut teh instan berbasis cincau hitam dapat ditentukan dengan pengukuran rehidrasi. Rehidrasi menunjukkan kemudahan penyerapan air dan

kecepatan rekonstitusi. Kemampuan rehidrasi erat kaitannya dengan pemanfaatan produk instan pada saat diseduh. Tingkat daya larut yang tinggi merupakan sifat yang diharapkan dari produk instan yang dikonsumsi dalam bentuk seduhan. Menurut Brennan (1994) dalam Nugroho (2006), suatu produk instan dipengaruhi oleh komposisi kimia dan sifat fisik bahan serta kondisi proses pengeringan. Menurut Hartomo dan Widiatmoko (1993), produk instan harus memiliki tingkat daya larut yang tinggi, sehingga penyeduhannya tidak lagi dengan air mendidih, tetapi dengan air hangat atau air dingin.

Dari hasil penelitian menunjukkan rerata nilai daya larut teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 94,40 – 98,60 %. Hasil analisa ragam (Lampiran 8), menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai daya larut. Berdasarkan uji lanjut dengan uji Duncan ($\alpha = 0,05$) beberapa formula perlakuan tersebut juga memberikan perbedaan yang nyata. Rerata nilai daya larut teh instan berbasis cincau hitam akibat pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 17.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
 Nilai yang disertai dengan notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Gambar 17. Grafik Rerata Nilai Daya Larut (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

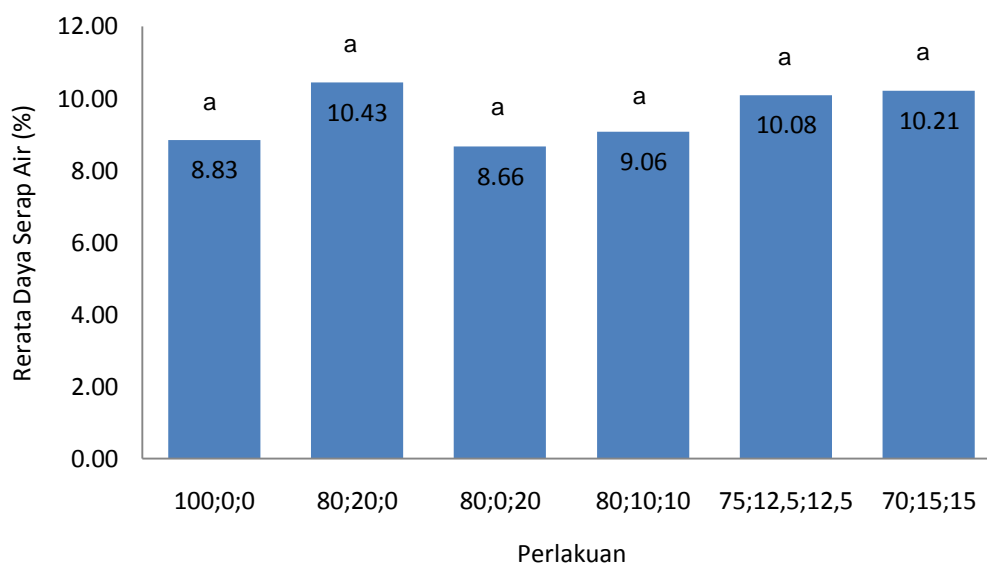
Pada Gambar 17 menunjukkan bahwa rerata nilai daya larut terendah diperoleh pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 10% dan serbuk kayu manis 10% yaitu 94,40%. Sedangkan rerata nilai daya larut tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 100%, serbuk daun pandan 0% dan serbuk kayu manis 0% yaitu sebesar 98,60%.

Teh instan yang dibuat dengan penambahan bahan pengisi mempunyai daya larut yang lebih baik. Menurut Copley (1964) bahwa bahan pengisi dapat memperbaiki sifat kebasahan (*wettability*) dan juga daya larut dari produk serbuk instan. Menurut Nurdin (2012), daya larut produk teh instan cincau hitam dengan bahan pengisi dekstrin lebih tinggi dibandingkan produk teh instan dengan bahan pengisi berupa maltodekstrin, hal ini disebabkan karena dekstrin yang memiliki rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ mempunyai bobot molekul yang lebih rendah dan merupakan golongan polisakarida yang mempunyai struktur kimia lebih sederhana terdiri dari ikatan-ikatan 1,6 α -glukosidik dan 1,4 α -glukosidik (William, 1997) dan lebih mudah menyerap air.

5.2.1.6 Daya Serap Air

Pengujian penyerapan air penting untuk produk yang memiliki kadar air relative rendah (lebih rendah dari 14%), seperti ibiskuit, kerupuk, dan produk instan. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui sifat pangan setelah dikontakkan dengan udara yang biasanya memiliki kadar air yang relative lebih tinggi. Dengan demikian dapat dilakukan usaha untuk mempertahankan mutu produk (Yuwono, 2001).

Dari hasil penelitian menunjukkan rerata nilai daya serap air teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 8,83 – 10,43%. Hasil analisa ragam (Lampiran 9), menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai daya serap air. Rerata nilai daya serap air teh instan berbasis cincau hitam akibat pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 18.



Teh Instan Cincau Hitam ; Serbuk Daun Pandan ; Serbuk Kayu Manis

Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
 Nilai yang disertai dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Gambar 18. Grafik Rerata Nilai Daya Serap Air (%) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

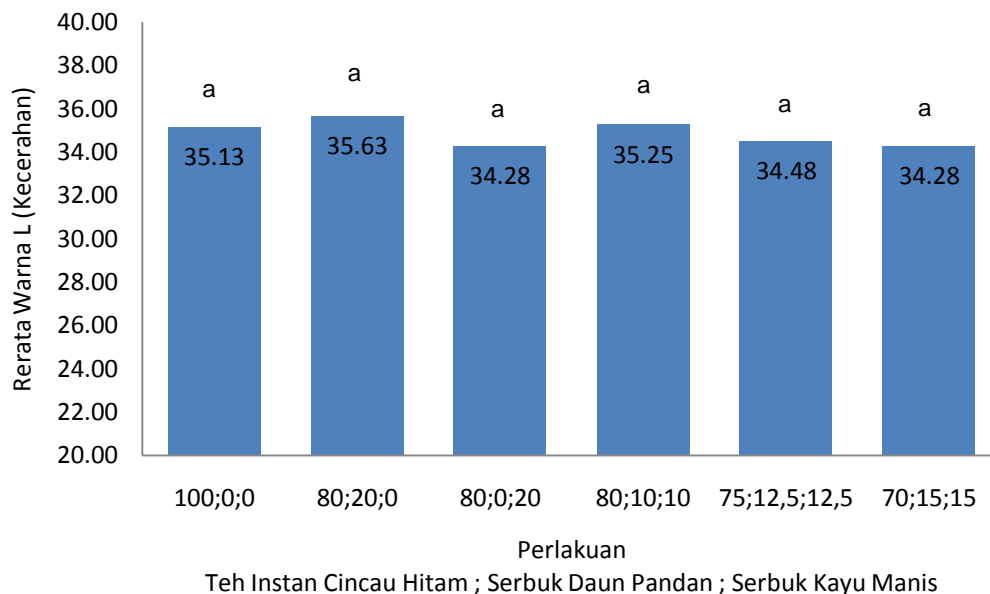
Pada Gambar 18 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak berpengaruh terhadap nilai daya serap air teh instan berbasis cincau hitam. Hal ini karena bahan pembuat teh instan berbasis cincau hitam (teh instan cincau hitam, serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis) masing perlakuan memiliki formula yang tidak jauh berbeda, dimana pada masing-masing bahan tersebut memiliki kadar air yang tidak jauh berbeda. Hal ini didukung oleh Nisa (2008), daya serap air produk instan sangat dipengaruhi oleh kadar air bahan tersebut. Menurut Adnan (1982), pada kadar air yang tinggi, produk berada pada kondisi yang relatif jenuh dibandingkan kadar air rendah sehingga kemampuannya untuk mengikat molekul uap air menjadi lebih kecil dibandingkan dengan produk yang memiliki kadar air relatif rendah.

5.2.1.7 Warna L (Kecerahan)

Warna adalah atribut yang pertama kali dipertimbangkan manusia dalam menilai suatu makanan. Eskin (1979) mengungkapkan bahwa warna dapat menentukan 45 persen dari keseluruhan mutu makanan.

Hasil penelitian menunjukkan rerata nilai warna L (kecerahan) teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 34,28 – 35,63. Hasil analisa

ragam (Lampiran 10), menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai warna L^* . Rerata nilai warna L (kecerahan) teh instan berbasis cincau hitam akibat pengaruh penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* dapat dilihat pada Gambar 19.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
 Nilai yang disertai dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Gambar 19. Grafik Rerata Nilai Warna L (Kecerahan) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Pada Gambar 19 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis tidak berpengaruh terhadap nilai warna L. Hal ini karena bahan pembuat teh instan berbasis cincau hitam (teh instan cincau hitam, serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis) memiliki warna yang hampir sama yaitu berwarna kehitaman, sehingga warna semua produk teh instan berbasis cincau hitam dari beberapa formula (perlakuan) menghasilkan warna mirip yaitu agak kehitaman dengan nilai L yang dihasilkan cenderung mendekati nilai nol (gelap).

Menurut Wijaya (2009) nilai L menyatakan tingkat gelap-terang dengan kisaran 0-100. Nilai 0 menyatakan warna hitam atau sangat gelap. Nilai 100 menyatakan kecenderungan warna putih atau terang. Senada dengan yang diungkapkan Wijaya (2009), Sharief (2006) juga mengemukakan nilai L

merupakan atribut nilai yang menunjukkan tingkat kecerahan suatu sampel. Nilai L memiliki kisaran 0 (hitam) – 100 (putih). Nilai L yang mendekati nol menunjukkan sampel memiliki kecerahan rendah (gelap). Sedangkan nilai L yang mendekati 100 menunjukkan sampel memiliki kecerahan tinggi (terang). Semakin tinggi nilai L, warna produk semakin cerah.

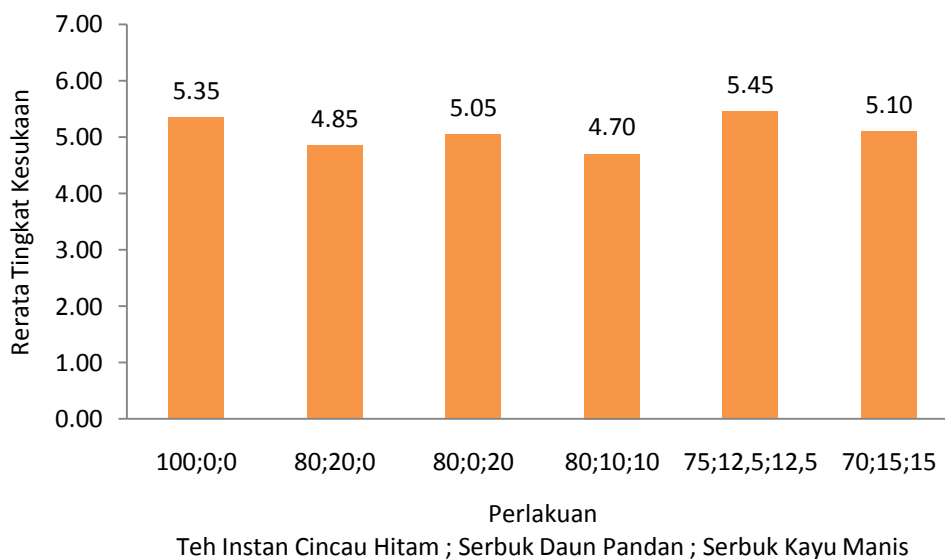
Tingkat kecerahan produk seringkali berhubungan dengan nilai kesukaan warna dari produk tersebut. Untuk produk yang diharapkan berwarna cerah, semakin besar tingkat kecerahan yang terukur maka akan meningkatkan pula nilai kesukaan terhadap warna produk, namun sebaliknya untuk produk yang diharapkan mempunyai warna tertentu selain cerah atau putih, peningkatan nilai tingkat kecerahan akan cenderung menurunkan nilai kesukaan terhadap warna karena produk menjadi pucat (Lindawati, 1992).

5.2.2 Uji Organoleptik

5.2.2.1 Warna

Warna memegang peranan penting dalam penerimaan bahan pangan karena dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia di dalam makanan. Menurut Winarno (1993), suatu bahan yang bernilai gizi, enak dan teksturnya sangat baik, tidak akan dikonsumsi apabila memiliki warna yang tidak sedap dipandang atau memberi kesan telah menyimpang dari warna yang seharusnya, selain sebagai faktor yang ikut menentukan mutu, warna juga dapat digunakan sebagai indikator keseragaman dan kematangan serta baik tidaknya cara pencampuran atau cara pengolahan dapat ditandai dengan adanya warna yang seragam dan merata.

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa rerata tingkat kesukaan panelis terhadap warna teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 4,70 (netral-agak menyukai) – 5,45 (agak menyukai-menyukai) (Lampiran 11). Rerata tingkat kesukaan panelis terhadap warna teh instan berbasis cincau hitam ditunjukkan pada Gambar 20.



Gambar 20. Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Warna Teh Instan berbasis Cincau Hitam.

Gambar 20 menunjukkan bahwa perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5%, dan serbuk kayu manis 12,5% memiliki rerata tingkat kesukaan warna tertinggi yaitu 5,45 (agak menyukai-menyukai), sedangkan rerata tingkat kesukaan warna terendah pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 10%, dan serbuk kayu manis 10% yaitu sebesar 4,70 (netral-agak menyukai).

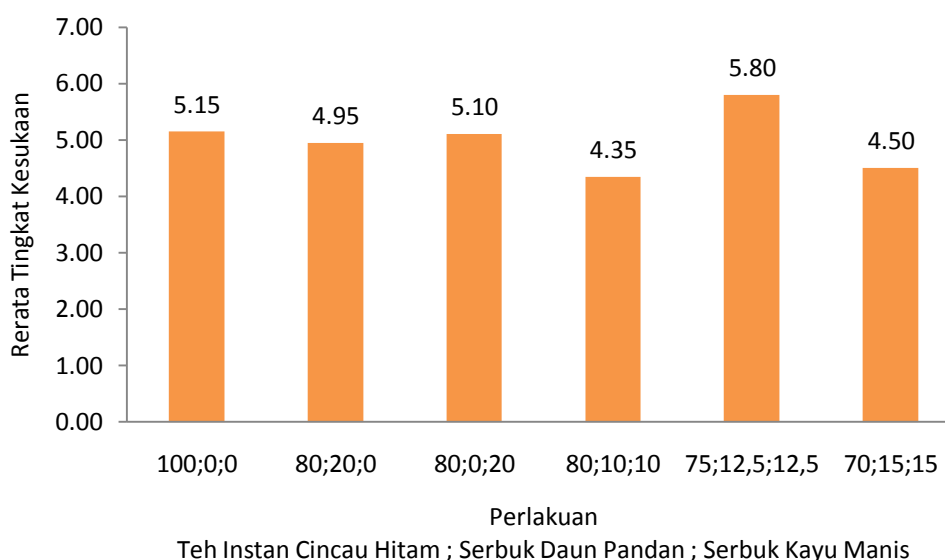
Hasil uji Friedman (Lampiran 11) menunjukkan bahwa perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula pembuatan teh instan berbasis cincau hitam tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap rerata rangking tingkat kesukaan warna teh instan berbasis cincau hitam. Hal ini karena warna teh instan berbasis cincau hitam pada semua formula perlakuan memberikan warna yang gelap (hitam) sehingga panelis memberikan nilai yang tidak jauh berbeda juga.

5.2.2.2 Aroma

Pembauan juga disebut pencicipan jarak jauh karena manusia dapat mengenal enakness makanan maupun minuman yang belum dilihat hanya dengan mencium baunya dari jarak jauh. Indera pembau berfungsi untuk menilai bau-bauan dari suatu produksi atau komoditi, baik berupa makanan atau non pangan (Soekarto, 1985).

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa rerata tingkat kesukaan panelis terhadap aroma teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan

pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 4,35 (netral-agak menyukai) – 5,80 (agak menyukai-menyukai) (Lampiran 12). Rerata tingkat kesukaan panelis terhadap aroma teh instan berbasis cincau hitam ditunjukkan pada Gambar 21.



Gambar 21. Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Aroma Teh Instan berbasis Cincau Hitam.

Gambar 21 menunjukkan bahwa perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5%, dan serbuk kayu manis 12,5% memiliki rerata tingkat kesukaan warna tertinggi yaitu 5,80 (agak menyukai-menyukai), sedangkan rerata tingkat kesukaan warna terendah pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 10%, dan serbuk kayu manis 10% yaitu sebesar 4,35 (netral–agak menyukai).

Hasil uji Friedman (Lampiran 12) menunjukkan bahwa perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula pembuatan teh instan berbasis cincau hitam memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap rerata rangking tingkat kesukaan aroma teh instan berbasis cincau hitam.

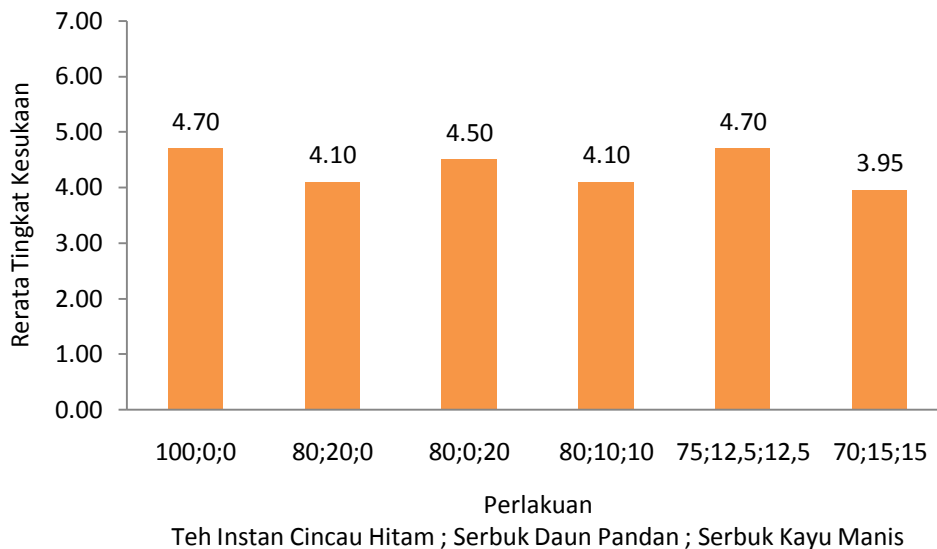
Perbedaan yang nyata terhadap tingkat kesukaan aroma teh instan berbasis cincau hitam disebabkan karena serbuk daun pandan dan serbuk kayu manis sebagai *Flavour Agent* memang memiliki aroma yang kuat dan yang biasa digunakan oleh masyarakat sebagai penambah Flavour khusus nya aroma pada makanan maupun minuman. Menurut Van Wyk (2005), daun pandan biasa

dipakai dalam pembuatan kue atau masakan lain seperti kolak dan bubur kacang hijau serta sewaktu menanak nasi, daun pandan juga kerap diletakkan di sela-sela nasi dengan maksud supaya nasi menjadi beraroma harum. Menurut Anonymous (2011^b), dalam pembuatan kue atau cake, kayu manis banyak digunakan oleh para tukang masak untuk menambah aroma atau menambah kenikmatan pada kue yang akan disajikan.

5.2.2.3 Rasa

Penginderaan tentang rasa sangat berhubungan dengan pencicipan atau pembauan, seseorang dapat segera mengenal adanya penyimpangan rasa dari suatu makanan maupun minuman dan dapat segera membuat koreksi yang diperlukan untuk menghindari penyimpangan itu (Rahayu, 2001).

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa rerata tingkat kesukaan panelis terhadap rasa teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 3,95 (agak tidak menyukai-netral) – 4,70 (Netral-Agak menyukai) (Lampiran 13). Rerata tingkat kesukaan panelis terhadap rasa teh instan berbasis cincau hitam ditunjukkan pada Gambar 22.



Gambar 22. Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Rasa Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Gambar 22 menunjukkan bahwa perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5%, serbuk kayu manis 12,5% dan formula teh instan cincau hitam 100%, serbuk daun pandan 0%, serbuk kayu

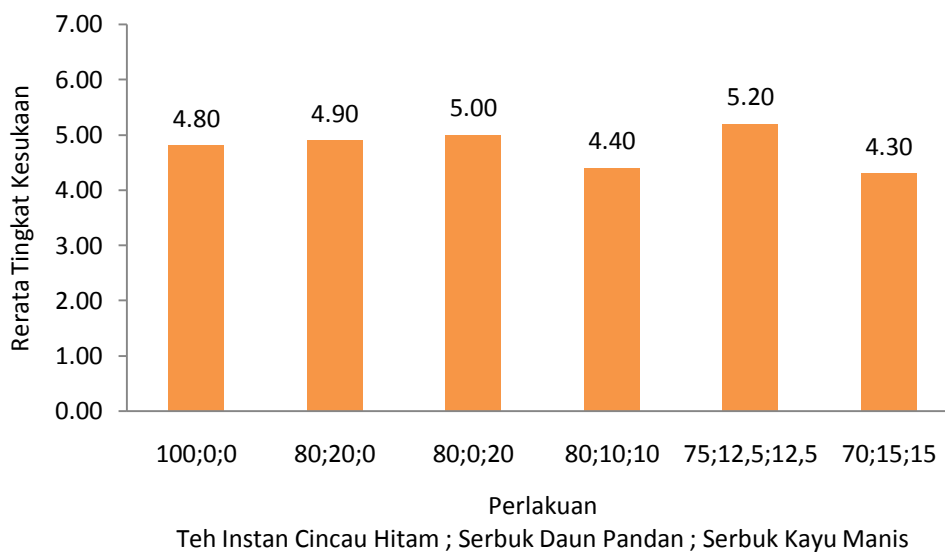
manis 0% memiliki rerata tingkat kesukaan rasa tertinggi yaitu 4,70 (netral–agak menyukai), sedangkan rerata tingkat kesukaan rasa terendah pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 70%, serbuk daun pandan 15%, dan serbuk kayu manis 15% yaitu sebesar 3,95 (agak tidak menyukai–netral).

Hasil uji Friedman (Lampiran 13) menunjukkan bahwa perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula pembuatan teh instan berbasis cincau hitam tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap rerata rangking tingkat kesukaan rasa teh instan berbasis cincau hitam. Hal ini karena rasa dari teh instan berbasis cincau hitam pada semua formula perlakuan memberikan rasa yang tawar, dimana ini sesuai dengan beberapa komentar yang tulis oleh panelis pada lembar formulir uji organoleptik mengenai saran dan komentar teh yang diinginkan yaitu teh yang memiliki rasa manis. Menurut Nurdin (2012), penilaian panelis terhadap rasa teh instan berhubungan dengan gambaran yang ada dibenak panelis bahwa teh yang diharapkan adalah teh yang memiliki rasa manis bukan teh tawar seperti yang disajikan.

5.2.2.4 Kenampakan

Kenampakan suatu bahan pangan sangat mempengaruhi tingkat penerimaan konsumen atas suatu produk makanan atau minuman. Kesukaan terhadap kenampakan yang dimaksud adalah homogenitas koagulum, kekentalan/viskositas, kehalusan dan kelembutan granula yang diamati panelis (Anindita, 2002).

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa rerata tingkat kesukaan panelis terhadap kenampakan teh instan berbasis cincau hitam akibat perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* berkisar antara 4,30 (netral-agak menyukai) – 5,20 (agak menyukai-menyukai) (Lampiran 14). Rerata tingkat kesukaan panelis terhadap kenampakan teh instan berbasis cincau hitam ditunjukkan pada Gambar 23.



Gambar 23. Grafik Rerata Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Kenampakan Teh Instan berbasis Cincau Hitam.

Gambar 23 menunjukkan bahwa perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5% dan serbuk kayu manis 12,5% memiliki rerata tingkat kesukaan kenampakan tertinggi yaitu 5,20 (agak menyukai-menyukai), sedangkan rerata tingkat kesukaan kenampakan terendah pada perlakuan dengan formula teh instan cincau hitam 70%, serbuk daun pandan 15%, dan serbuk kayu manis 15% yaitu sebesar 4,30 (netral-agak menyukai).

Hasil uji Friedman (Lampiran 14) menunjukkan bahwa perlakuan penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula pembuatan teh instan berbasis cincau hitam tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap rerata rangking tingkat kesukaan kenampakan teh instan berbasis cincau hitam. Hal ini karena kenampakan teh instan berbasis cincau hitam pada semua formula perlakuan tidak jauh berbeda.

5.2.3 Uji Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan metode De Garmo *et al.* (1984) yaitu menentukan bobot (Lampiran 15) dan Nilai Efektifitas (NE) (Lampiran 16) pada setiap parameter yang diamati pada penelitian yang kemudian mengalikan keduanya untuk menentukan Nilai Produk (NP). Nilai Produk (NP) tertinggi ditentukan sebagai perlakuan terbaik (Lampiran 17). Nilai Produk (NP) pada fisiko-kimia dan organoleptik ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Nilai Produk (NP) Parameter Fisiko-Kimia dan Organoleptik Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Perlakuan TICH;SDP;SKM	Nilai Produk (NP) Fisiko-Kimia	Nilai Produk (NP) Organoleptik
100;0;0	0,47	0,72
80;20;0	0,22	0,39
80;0;20	0,83 *	0,63
80;10;10	0,56	0,08
75;12,5;12,5	0,52	1,00 *
70;15;15	0,52	0,13

Keterangan: TICH:Teh Instan Cincau Hitam, SDP:Serbuk Daun Pandan, SKM:Serbuk Kayu Manis, *) menunjukkan perlakuan terbaik.

Pada Tabel 8 dapat dilihat bahwa penilaian produk perlakuan terbaik untuk fisiko-kimia berbeda dengan organoleptik. Perlakuan terbaik untuk nilai produk fisiko-kimia didapatkan berdasarkan analisa atau penilaian secara obyektif dari masing-masing parameter, dimana perlakuan terbaiknya pada formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 0% dan serbuk kayu manis 20%. Perlakuan terbaik untuk nilai produk organoleptik didapatkan dari penilaian subyektifitas panelis, dimana perlakuan terbaiknya adalah pada formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5% dan serbuk kayu manis 12,5%. Karakteristik fisiko-kimia dan organoleptik dari perlakuan terbaik berdasarkan nilai produk fisiko-kimia dan organoleptik dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Karakteristik Fisiko-Kimia dan Organoleptik Perlakuan Terbaik Berdasarkan Nilai Produk (NP) Fisiko-kimia dan Organoleptik Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Parameter	Formula Teh Instan berbasis Cincau Hitam (TICH : SDP : SKM)	
	80 : 0 : 20	75 : 12,5 : 12,5
Fisiko-Kimia		
- Kadar Fenol (%)	4,69	4,52
- Antioksidan (IC ₅₀) (ppm)	122,58	145,13
- Kadar Air (%)	5,90	6,14
- Densitas Kamba (g/ml)	0,77	0,79
- Daya Larut (%)	96,00	95,17
- Daya Serap Air (%)	8,66	10,08
- Warna L	34,28	34,48
Organoleptik		
- Warna	5,05	5,45
- Aroma	5,10	5,80
- Kenampakan	5,00	5,20
- Rasa	4,50	4,70

Keterangan : TICH:Teh Instan Cincau Hitam, SDP:Serbuk Daun Pandan, SKM:Serbuk Kayu Manis

Pada Tabel 9 dapat dilihat bahwa perlakuan formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5% dan serbuk kayu manis 12,5%

merupakan penilaian terbaik secara organoleptik. Penilaian secara organoleptik untuk parameter antioksidan, kadar fenol, kadar air, densitas kampa, daya larut, daya serap, dan warna L lebih rendah dari pada penilaian secara fisiko-kimia. Hal ini dikarenakan kontribusi bahan awal yang lebih rendah. Adapun perlakuan terbaik menurut parameter fisiko-kimia, memiliki penilaian organoleptik yang rendah karena menurut panelis memberikan rasa (flavour) kayu manis yang berlebihan sehingga kurang bisa diterima oleh indra perasa.

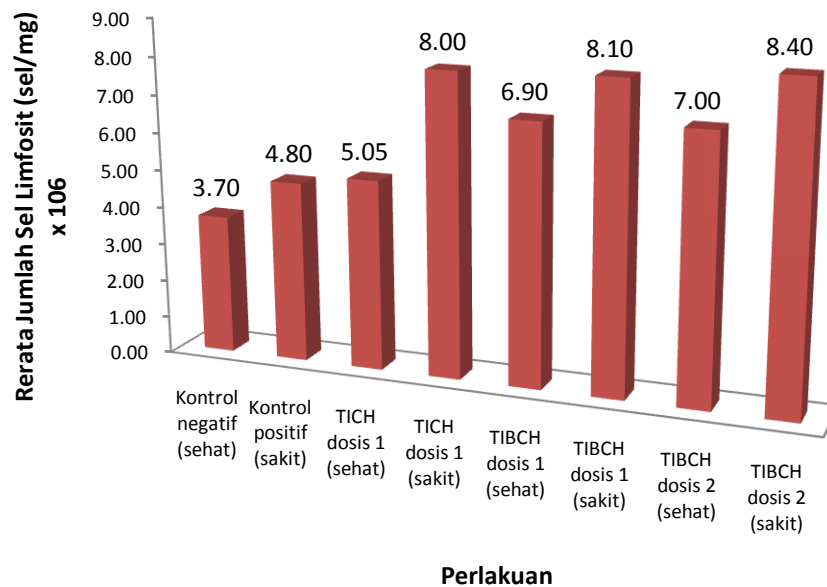
5.3 Pengujian Teh Instan berbasis Cincau Hitam Perlakuan terbaik terhadap Aktivitas Sistem Imun pada Hewan Coba.

Pengujian teh instan berbasis cincau hitam terhadap aktivitas sistem imun (jumlah sel limfosit dan total IFN- γ) pada hewan coba mencit dilakukan dengan formula TICH 75% : SDP 12,5% : SKM 12,5% dari perlakuan terbaik dilihat dari nilai produk (NP) organoleptik.

5.3.1 Perhitungan Jumlah Sel Limfosit

Limpa merupakan organ limfoid terbesar dan berfungsi untuk mengakumulasi limfosit dan makrofag, degradasi eritrosit, tempat cadangan darah, dan sebagai organ pertahanan terhadap infeksi partikel asing yang masuk kedalam darah (Anonymous, 2011^b). Limfosit yang beredar dalam darah mengalami kenaikan jika sistem imunnya meningkat dibandingkan dengan keadaan sakit (Lestari 2008).

Hasil penelitian menunjukkan rerata jumlah sel limfosit pada perlakuan ini berkisar antara $3,70 - 8,40 \times 10^6$ sel/ml. Rerata jumlah limfosit terendah diperoleh pada perlakuan kontrol negatif yaitu sebesar $3,70 \times 10^6$ sel/ml, sedangkan rerata jumlah limfosit tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan teh instan berbasis cincau hitam dosis 38,4 mg/0,2ml/hari pada kondisi sakit yaitu sebesar $8,40 \times 10^6$ sel/ml. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 24.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
 TICH : teh instan cincau hitam; TIBCH; teh instan berbasis cincau hitam
 Dosis 1: 18,2mg/0,2ml/hari; Dosis 2: 38,4mg/0,2ml/hari
 Sakit: diinfeksi bakteri *Salmonella thypimurium*; Sehat: tidak diinfeksi bakteri *Salmonella thypimurium*

Gambar 24. Grafik Rerata Jumlah Sel Limfosit (sel/ml) pada Organ Limpa Mencit

Dari Gambar 24 menunjukkan bahwa pada semua kelompok mencit perlakuan terjadi peningkatan proliferasi sel limfosit dibanding kelompok kontrol. Hal ini membuktikan bahwa pemberian TICH maupun TIBCH pada mencit sehat maupun mencit sakit dapat berpengaruh pada sistem imun seluler karena mampu meningkatkan proliferasi sel limfosit.

Menurut Baratawidjaja (2004) dalam Lestarini (2008), Limfosit mengalami resirkulasi dari organ limfoid satu ke lainnya, kesaluran limfe dan darah, sehingga saat terjadi infeksi akan banyak limfosit yang terpajan antigen. Kemampuan mengenal antigen tersebut karena adanya reseptor pada permukaan sel limfosit. Limfosit yang teraktivasi akan segera membelah/proliferasi dan akan mengekspresikan dan memproduksi sitokin yang dapat mengaktivasi proliferasi limfosit dalam organ limfoid

Adanya peningkatan proliferasi sel limfosit diakibatkan karena teh instan cincau hitam maupun teh instan berbasis cincau hitam pada penelitian ini mengandung senyawa fenol (4,02 – 4,69%) yang mampu mempengaruhi sistem imun seluler selain senyawa-senyawa bioaktif lain nya. Senyawa fenol maupun bioaktif pada cincau hitam dapat bersifat sebagai *imunomodulator* karena mampu meningkatkan *proliferasi sel limfosit* (Widyaningsih, 2011). Menurut Tang (1992),

komponen senyawa fenol dari beberapa tanaman telah terbukti mempunyai efek positif terhadap respon proliferasi dan sitolitik pada sel limfosit tetapi bersifat antiproliferasi dan toksik terhadap sel kanker. Menurut Wibowo (2006), polifenol yang ada pada teh hijau terbukti meningkatkan sistem pertahanan tubuh yaitu dengan menstimulasi produksi Interleukin-1 α (IL-1 α), Interleukin-1 β (IL-1 β), dan Tumor-Necrotizing Factor α (TNF- α) dan meningkatkan sekresi IFN- γ dan respons proliferasi limfosit, serta kemampuan fagositosis dan sekresi IL-12 makrofag. Hal ini diperkuat oleh pendapat Adiputri (2006), *Epigallocatechingallate* (EGCg) adalah salah satu komponen polifenol yang sangat potensial dalam menstimulasi produksi *interleukin-1 alpha* (IL-1 α), *interleukin-1 beta* (IL-1 β), *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), EGCg juga dapat membantu proses fagositosis, meningkatkan ketahanan limfosit, proliferasi limfosit, sekresi IL-12 makrofag, dan meningkatkan IFN- γ .

Menurut Abbas (1994), respon imun protektif terhadap infeksi *Salmonella typhimurium* adalah imunitas seluler (*cell mediated immunity*). Reaksi yang terjadi dalam respon imun tersebut adalah : penghancuran bakteri yang difagosit oleh makrofag yang diaktivasi oleh sitokin-sitokin yang diproduksi limfosit T dan lisis terhadap sel yang terinfeksi oleh sel T CD8+ (CTLs) dan sel NK.

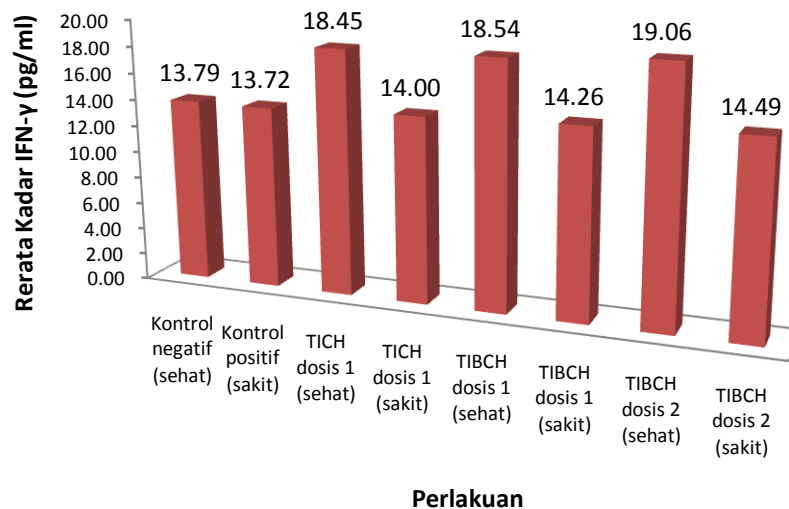
Sel T CD4+ dan CD8+ merespon antigen dari mikroba yang difagosit yang berkaitan dengan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II kepermukaan sel yang akan dikenali oleh limfosit T. Interaksi ini menyebabkan limfosit mensekresi IL-12 yang akan memacu proliferasi dan diferensiasi limfosit menjadi sel T CD4+. Sel ini akan mensekresi IL-2 yang akan membantu proliferasi dan diferensiasi sel T menjadi sel CD8+ dan mensekresi IFN- γ yang memacu aktivitas makrofag dalam bakteri.

5.3.2 Analisa Kadar Interferon Gamma (IFN- γ)

IFN- γ merupakan salah satu jenis sitokin, memegang peran baik pada respon imun bawaan maupun pada respon imun adaptif di perantara sel terhadap mikroba intrasel pada model hewan percobaan tikus (Abbas, 2007 dalam Mato, 2010).

Hasil analisa kadar interferon gamma (IFN- γ) menunjukkan bahwa rerata kadar IFN- γ pada perlakuan penelitian ini berkisar antara 13,72 – 19,06 pg/ml. Rerata kadar IFN- γ terendah diperoleh pada perlakuan kontrol positif yaitu sebesar 13,72 pg/ml. Sedangkan rerata kadar IFN- γ tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan teh instan berbasis cincau hitam dosis 38,4 mg/0,2ml/hari

pada kondisi sehat yaitu sebesar 19,06 pg/ml. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 25.



Keterangan : Data merupakan rerata 4 kali ulangan
TICH : teh instan cincau hitam; TIBCH; teh instan berbasis cincau hitam
Dosis 1: 18,2mg/0,2ml/hari; Dosis 2: 38,4mg/0,2ml/hari
Sakit: diinfeksi bakteri *Salmonella thypimurium*; Sehat: tidak diinfeksi bakteri *Salmonella thypimurium*

Gambar 25. Grafik Rerata Kadar IFN- γ (pg/ml) pada Serum Mencit

Dari Gambar 25 menunjukkan bahwa pada semua kelompok mencit perlakuan kondisi sakit mengalami penurunan kadar IFN- γ dibandingkan dengan mencit kondisi sehat, pada perlakuan yang sama (bahan dan dosis). Hal ini membuktikan bahwa Perlakuan dengan infeksi *Salmonella typhimurium* menyebabkan infeksi yang mengakibatkan penurunan sistem imun terlihat pada kadar IFN- γ yang menurun. Sedangkan pada kondisi yang sama dengan bahan yang sama memberikan kadar IFN- γ yang meningkat seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan, dimana hal ini disebabkan karena senyawa fenol dan bioaktif yang terdapat pada teh instan berbasis cincau hitam selain bersifat antioksidan juga bersifat imunomodulator. Menurut Widyaningsih (2012), semakin tinggi dosis ekstrak air cincau hitam yang diberikan maka kandungan senyawa fenol dan bioaktifnya juga akan semakin meningkat sehingga menyebabkan kemampuan untuk mensekresi IFN- γ juga semakin meningkat. Selain senyawa polifenol senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan pada hsian tsao sejenis cincau hitam dari cina adalah tritepenoid (oleanolic acid dan ursolic acid), sigmasterol dan β -sitosterol (Hung dan Yen, 2001; Hung dan Yen, 2002). Senyawa-senyawa bioaktif ini dapat meningkatkan IFN- γ melalui sekresi IL-12 (Chiang *et al.*, 2003).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula teh instan berbasis cincau hitam berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap total fenol, aktivitas antioksidan (IC_{50}), dan daya larut. Sedangkan pada parameter organoleptik, penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula teh instan berbasis cincau hitam hanya berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap tingkat kesukaan aroma teh instan berbasis cincau hitam.

Teh instan berbasis cincau hitam pada formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5% dan serbuk kayu manis 12,5% merupakan perlakuan terbaik menurut penilaian secara organoleptik dengan karakteristik fisiko-kimia sebagai berikut : aktivitas antioksidan (IC_{50}) 145,13 ppm, kadar fenol 4,52%, kadar air 6,14%, densitas kampa 0,79 g/ml, daya larut 95,17%, daya serap air 10,08%, warna L 34,48. Sedangkan karakteristik organoleptik memiliki tingkat kesukaan warna 5,45 (agak menyukai-menyukai), aroma 5,80 (agak menyukai-menyukai), kenampakan 5,20 (agak menyukai-menyukai) dan rasa 4,70 (netral-agak menyukai). Serta dapat meningkatkan aktivitas sistem imun dimana pemberian TIBCH tersebut mampu meningkatkan proliferasi jumlah sel *limfosit* baik pada kondisi mencit sehat maupun kondisi mencit sakit dan juga mampu meningkatkan kadar IFN- γ pada kondisi mencit sehat.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula teh instan berbasis cincau hitam ini disarankan:

1. penambahan pandan wangi dan kayu manis sebagai *Flavouring Agent* pada formula teh instan berbasis cincau hitam sebaiknya menggunakan formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5% dan serbuk kayu manis 12,5% guna menghasilkan teh instan berbasis cincau hitam dengan

nilai kuantitas fisiko-kimia yang optimun dan nilai kualitas organoleptik yang dapat diterima masyarakat.

2. Mengingat nilai evaluasi sensori rasa dari panelis cukup rendah terhadap produk teh instan berbasis cincau hitam, maka perlu penelitian lebih lanjut tentang penambahan bahan pemberi rasa manis pada teh instan berbasis cincau hitam guna memenuhi keinginan dari konsumen tanpa menghilangkan nilai fungsional dari produk tersebut, misalnya penambahan gula atau pemanis tanpa kalori seperti siklamat, aspartam maupun gula stevia.
3. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap umur simpan produk teh instan berbasis cincau hitam agar dapat mengetahui sampai berapa lama produk dapat disimpan dan digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 1994. **Cellular and molecular Immunology. 2nd edition**. Philadelphia : Saunders. 323 – 6.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 2005. **Cellular and Molecular Immunology; 5th ed**. Philadelphia: Elsevier-Saunders.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2007. **Cellular and Molecular Immunology. Sixth edition**. Philadelphia. Saunders Elsevier Inc.
- Ahfan. 2009. **Khasiat Cincau Untuk Kesehatan**. <http://ahfan21.blogspot.Com/2009/08/khasiat-cincau-janggalan-bagi-kesehatan.html>
- Anindita. 2002. **Pembuatan Yakult Kacang Hijau Kajian Tingkat Pengenceran dan Konsentrasi Sukrosa**. Skripsi. Jurusan THP. FTP. Universitas Brawijaya. Malang
- Anonymous. 2010. **Kayu Manis**. <http://toiUSD.multiply.com/journal/item/268>. diakses 30/07/2012
- Anonymous. 2011^a. **Manfaat Kayu Manis (Cinnamon)**. <http://gedekaz.blogspot.com/2011/12/manfaat-kayu-manis-cinnamon.html>. diakses 30/03/2013
- Anonymous. 2011^b. **Fungsi Limpa**. <http://modernjumb.blogspot.com/2011/02/fungsi-limpa.html>. diakses 30/03/2013
- Anonymous^a. 2012. **Janggalan (*Mesona palustris* BL)**. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=841>. diakses 27/05/2012.
- Anonymous^b. 2012. **Khasiat Pandan Wangi**. <http://kitabherba.blogspot.com/2012/03/khasiat-pandan-wangi.html> diakses 30/07/2012
- Anonymous^c. 2012. **Biological characters of *Salmonella***. http://www.geocities.com/avinash_abhyankar/salmonella.jpg. diakses 28/05/2012
- Anonymous. 2005. **Pandan Wangi**. http://www.ipitek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=124. diakses 30/07/2012.
- Anonymous. 2008. **Maltodextrin**. [Http://www.global-b2b-network.com/direct/dbimage/50014498](http://www.global-b2b-network.com/direct/dbimage/50014498). diakses 27/05/2012
- Anonymous. 2011. **Anatomi dan Fisiologi Sistem Imun**. <http://wasidhagano.blogspot.com/2011/05/anatomi-dan-fisiologi-sistem-imun.html>. diakses 27/05/2012
- AOAC. 1984. **Official Methode of Analysis**. Association Official Agriculture Chemist. USA
- Aref M. 1987. **Ilmu Meracik Obat Berdasar Teori Dan Praktek**. Universitas Gajahmada Press. Yogyakarta

- Armand, Dery. 2007. **Optimasi Proses Ekstraksi dan Pengeringan Semprot Pada teh Hijau Instan**. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB
- Astawan M. 2009. **Kayu Manis Tangkal Kanker Hati ganas**. Tabloid Gaya Hidup Sehat: Jakarta.
- Astawan M. 2011. **Cincau Hitam Pelepas Dahaga**. <http://dismanto.blogspot.com/2011/05/cincau-hitam-pelepas-dahaga.html>
- Azima F, Muctadi D, Zakaria B, dan Priosoeryanto. 2004. **Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Bubuk Cassia Vera (*Cinnamomum burmanni*)**. *Stigma* Volume XII No 2. April-Juni : 232-233
- Baratawidjaja KG. 2004. **Imunologi Dasar** .edisi-6. Jakarta: FKUI. p: 234-9
- Baratawidjaja KG, Rengganis I. 2010. **Imunologi Dasar**. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Blancard PH and Katz FR. 1995. **Starch Hydrolisis in Food Polysaccharides and Their Application**. Marcell Dekker, Inc. New York
- Brennan JG. 1994. **Food Dehydration Dictionary and Guide**. Elsevier Applied Science. London
- Brooks GF, Butel JS, dan Morse SA. 2005. **Mikrobiologi kedokteran**. Ed-1. Jakarta: Salemba Medika; 364-7.
- Buttery RG, Ling LC, Juliano BO, and Turnbough JC. 1983. **Cooked rice aroma and 2- acetyl-1-pyrroline**. *J. Agric. Food Chem.* 31, 823 – 826.
- Cavalcante JMS, Tiago Bezerra de Sá de Souza Nogueira, Anna Cláudia de Andrade Tomaz, Davi Antas e Silva, Maria de Fátima Agra e Maria de Fátima Vanderlei de Souza. 2010. **Steroidal and Phenolic Comounds from *Sidastrum paniculatum* (L.) Frxell and evaluation of Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activities**. *Quim. Nova*, 33(4): 846-849.
- Chiang LC, Ng Lean T, Chiang W, Chang MY, Lin cc. 2003. **Immunomodulatory Activities of Flavonoids, Monoterpenoids, Triterpenoids, Iridoid Glycosides and Phenolic Compounds of Plantago Species**. *Planta Med* 69: 600-604
- Copley and van Arsdell. 1964. **Food Dehydration**. AVI Publishing. Co., Inc. Westport . Connecticut
- Dalimartha dan Setiawan. 2002. **Obat Tradisional, Pandanwangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)**. <http://www.pdpersi.co.id>.
- De Garmo EDWG, Sullivan and Canada JR. 1984. **Engineering Economy**. Mc Millin Pub. Company. New York.

- Dewi AK. 2000. **Pengaruh Jenis Dan Konsentrasi Bahan Pengisi Terhadap Sifat fisik, Kimiaw iDan Organoleptik Serbuk Effervescent Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*).** Skripsi. FTP.UNIBRAW. Malang
- Dharmana E, Susilaningsih N, Widjayahadi N. 2007. **Pengaruh Pemberian Tolak Angin Cair terhadap Jumlah Sel T, Kadar IFN- γ , dan IL-4.** Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Earle RL. 1982. **Satuan Operasi dalam Pengolahan Pangan.** Terjemahan Sastra Hudaya, Jakarta.
- Ekaprasada M dan Taufik. 2009. **Isolasi Senyawa Antioksidan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume).** www.ekadarmun.wordpress.com. Diakses tanggal 20 April 2013.
- Ery WAD. 2009. **Pengaruh Ekstrak Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) 6 mg/grBB terhadap Waktu Induksi Tidur dan Lama Waktu Tidur Mencit balb/c yang diinduksi *Thiopental* 0,546 mg/20mgBB.** Fakultas Kedokteran. Universitas Diponogoro. Semarang
- Guzman CC and Siemosma SS. 1999. **Plant Resources Of South-East Asia.** spices no.13 Bogor.
- Handayani L, Puspita S, Unus, dan Djumarti. **Evaluasi Kandungan Total Polifenol dan Aktifitas Antioksidan Minuman Ringan Fungsional Teh-Mengkudu pada berbagai formolasi.** Universitas Jember. Jember
- Harborne JB. 1987. **Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan (Terjemahan Padmawinata dan I. Soediro).** Penerbit ITB, Bandung
- Hartomo AJ dan Widiatmoko MC. 1993. **Emulsi dan Pangan Instan Berlesitin.** Andi Offset. Jakarta
- Hung CY and Yen GC. 2002. **Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Hemsl.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (10):2993-7.
- Hung CY and Yen GC. 2001. **Extraction and Identification of Antioxidative Components of Hsian-Tsao (*Mesona Procumbens* Hemsl).** Academic Press. <http://www.idealibrary.com>
- Ifanka. 2009. **SistimImun.** <http://id.shvoong.com/exact-sciences/1941063-sistem-imun>
- Irmawati I, Tjahjono, dan Dharmana E. 2004. **Pengaruh jus Aloe Vera terhadap proliferasi limfosit, produksi reactive oxygen intermediate dan koloni kuman organ hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.** M Med Indonesia;39:195-202.
- Jawetz, Melnick, and Adelbeg's. 2004. **Mikrobiologi Kedokteran, Ed 23.** Jakarta : EGC.

- Jie Li, Wei-Jian G, and Qing-Yao Y. 2002. **Effects of Ursolic Acid and Oleanolic Acid on Human Colon Carcinoma Cell Line HCT15**. *World Journal of Gastroenterology*, 8(3), p 493-495.
- Julius ES. 1990. **Mikrobiologi Dasar**. Jakarta :Binarupa Aksara.
- Karsinah, Luky HM, Suhato dan Mardiasuti HW. 1994. **Mikrobiologi Kedokteran**, Edisi Revisi. Hal : 168-173. Jakarta: Binapura Aksara.
- Kiessoun K, Souza A, Meda NTR, Coulibaly AY, Kiendrebeogo M, Lamien-Meda A, Lamidi M, Millogo-Rasolodimby J, Nacoulma OG. 2010. **Polyphenol Contents, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Six Malvaceae Species Traditionally used to Treat Hepatitis B in Burkina Faso**. *European Journal of Scientific Research*. 44(4): 570-580.
- Kresno SB. 2001. **Imunologi**. Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Lai JH. 2002. **Immunomodulatory effects and mechanisms of plant alkaloid tetrandrine in autoimmune diseases**. *Acta Pharmacol Sin*. Dec; 23(12): p. 1093-1101
- Lane Petter W. 1976. **The Laboratory Mouse**. In C. W. Hume, The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. Churchill livingstone. Edinburg, New York.
- Lestari IA. 2008. **Pengaruh pemberian *Phyllanthus niruri* L terhadap respon imunitas seluler mencit balb/c yang diinfeksi dengan *salmonella typhimurium***. Tesis. Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Lindawati L. 1992. **Mempelajari Cara Pembuatan Minuman Bubuk Jambu Biji**. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fateta. IPB. Bogor
- listyawati M, Tranggono, dan Suyitno. **Pembuatan dan karakterisasi bubuk pandan wangi siap pakai**. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. <http://www.scribd.com/doc/63064072/14>
- Mato R, Hatta M dan Stahrir R. 2010. **Polimorfisme Gen Interferon Gamma (IFN- γ) pada Penderita Influenza Like Illness Disease Tahun 2010**.
- Monack DM, Bouley DM, and Falkow S. 2004. ***Salmonella typhimurium* persists within macrophages in the mesenteric lymph nodes of chronically infected Nramp1^{+/+} Mice and can be reactivated by IFN γ neutralization**. *JEM*;199:231-41.
- Nisa FC, Joni K, dan Chisnasari R. 2008. **Viabilitas dan Deteksi Subletal Bakteri Probiotik pada Susu Kedelai Fermentasi Instan Metode Pengeringan Beku (Kajian Jenis Isolat dan Konsentrasi Sukrosa sebagai Krioprotektan)**. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol.9 No.1, April 2008. 40-51

- Nugroho ES, Tamaroh S dan Setyowati A. 2006. **Pengaruh Konsentrasi Gum Arab dan Dekstrin terhadap Sifat Fisik dan Tingkat Kesukaan Temulawak (*Curcuma Xanthoriza Roxb*) Madu Instan.** LOGIKA, Vol. 3, No. 2, Juli 2006. Yogyakarta ISSN: 1410-2315.
- Nurdin MH. 2012. **Pengembangan Produk Minuman Fungsional Teh Instan Berbahan Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) dengan Metode Pengeringan Semprot.** Universitas Brawijaya. Malang
- Park JH, Lee JK, Kim HS, Chung ST, and Eom JH. 2004. **Immunomodulatory Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester in Balb/c mice.** International Immunopharmacology, 4, p 429-436.
- Prasetyaningrum, Utami R, dan Anandito RBK. 2012. **Aktivitas Antioksidan, Total Fenol, dan Anti Bakteri Minyak Atsiri dan Oleoresin Kayu manis (*Cinnamomum burmanni*).** Jurnal Teknosains Pangan Vol 1 No 1 Oktober 2012. ISSN: 2302-0733.
- Prasetyo A, Gelu MFD, Yosefeta R, Nugroho DA, dan Kurniasari T. 2005. **Pengaruh pemberian ekstrak *Pheretima aspergillum* terhadap perubahan histopatologik ileum, hepar, vesika fellea dan lien pada tikus Balb/ yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.** M Med Indonesia;40:36-44.
- Pitojo S dan Zumiaty. 2005. **Cincau: Cara Pembuatan dan Variasi Olahannya.** Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Purseglove JW, Brown EG, Green CL, dan Robbins SRL. 1981. **Spices, Vol.2.** Longman mc, New York.
- Qauliyah A. 2010. **Pemanfaatan Tanaman Kayu Manis Sebagai Obat Penyakit Angular Cheilitis.** <http://astaqauliyah.com/2010/05/>
- Rafenska V. 2012. **7 Manfaat Kayu Manis Bagi Kesehatan.** Wolipop. <http://wolipop.detik.com/read/2012/01/28/110430/1827776/1135/7-manfaat-kayu-manis-bagi-kesehatan>
- Rahayu MS. 2001. **Penuntun Praktikum Penilaian Organoleptik.** Fakultas Teknologi Pertanian-IPB. Bogor.
- Saleh, Mahmoud A, Shavon C, Brooke W, and Suziat ADS. 2010. **Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils.** Ethnicity & Disease, Volume 20, Spring 2010, pages : 78-82.
- Santos RL, Zhang S, Tsoilis RM, Bäumlér AJ, and Adams LG. 2002. **Morphologic and molecular characterization of *Salmonella typhimurium* infection in neonatal calves.** Vet. Pathol.;39:200-215
- Setijono MM. 1985. **Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Percobaan.** IPB. Bogor

- Shahwar D, Shafiq-ur-Rehman, Ahmad N, Ullah S, Raza MA. 2010. **Antioxidant Activities of the Selected Plants from the Family Euphorbiaceae, Lauraceae, Malvaceae and Balsaminaceae.** African Journal of Biotechnology, 9(7): 1086-1096.
- Shishodia S, Skhtar M, Sanjeev B. and Bharat BA. 2003. **Ursolic Acid Inhibits Nuclear Factor-B Activation Induced by Carcinogenic Agents through Suppression of I κ B Kinase and p65 Phosphorylation: Correlation with Down-Regulation of Cyclooxygenase 2, Matrix Metalloproteinase 9, and Cyclin D11.** Cancer Press: 63; p 4375-4383.
- Sikorska M and Matlawska I. 2008. **Polyphenolic Compounds from *Abutilon grandiflorum* Leaves, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug. Research*, 65(4): 467-471.**
- Sudarmadji S, Haryono B, dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Liberty. Yogyakarta.
- Sugati S dan Johnny RH. 1991. **Inventaris Tanaman Obat Indonesia.** Badan Penelitian & Pengembangan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Sukandar, Dede, Zayyant, Dinnu, dan Septyani. 2007. Laporan Penelitian: **Eksplorasi Potensi Kimia Minyak Atsiri Pada Daun Tumbuhan Pandan Wangi.** Jakarta: UIN Syahid
- Sukandar, Dede, Hermanto, Sandra, dan Lestari, Emi. 2008. **Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarullifolius* Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).** Journal Valensi, Kimi FST-UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Sunanto H. 1995. **Budidaya Cincau.** Kanisius, Jakarta
- Suparti W. 2000. **Pembuatan Pewarna Bubuk dari Ekstrak Angkak: pengaruh Suhu, Tekanan dan Konsentrasi Dekstrin.** Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Soekarto ST dan Soewarno. 1985. **Penilaian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian.** Bhatera Karya Aksara. Jakarta.
- Soekarto ST. 1990. **Penilaian Organoleptik.** Penerbit Bhatera Karya Aksara. Jakarta
- Tang W And Eisenbrand G. 1992. **Chinese Drugs of Plant Origin.** Berlin: Springer-Verlag Press.
- Tanjung N. 1987. **Mempelajari Cara Pembuatan Teh Instan Dengan Alat Pengering Semprot.** Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fateta. IPB. Bogor
- Tizard IR. 2004. **Veterinary Immunology: an Introduction Sixth Edition.** Pennsylvania: WB Saunders.

- Tjitrosoepomo G. 2002. **Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)**. UGM Press, Yogyakarta.
- Todar K. 2008. **Salmonella and Salmonellosis**. <http://www.textbookofbacteriology.net/salmonella.html>. diakses 27/05/2012
- Tommy. 2009. **Cincau Hitam Cocok Untuk Pelangsing**. <http://cincausehat.wordpress.com/2009/08/10/cincau-hitam-cocok-untuk-pelangsing/>. diakses 27/05/2012
- Torres AV, Causon JJ, and Baumer AJ. **Extraintestinal dissemination of salmonella by CD18 expressing phagocyte**. <http://www.nature.com/nature/journal/V.401/n67555/image/40>. diakses 28/05/2012
- Ugrinovic S, Ménager N, Goh N, and Mastroeni P. 2003. **Characterization and development of T-cell immune responses in B-cell-deficient (Igh-6-/-) mice with Salmonella enterica serovar typhimurium infection**. Infect. Immun.; 71: 6808-19.
- Van Wyk and Ben-Erik .2005. **Food Plants of the World**. Portland, Oregon: Timber Press, Inc. ISBN 0-88192-743-0
- Vinerdell MP and Mitjaans. 2008. **Immunomodulatory Effects of Polyphenols**. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 7(8),3356-3362.
- Widowati S, Nurjanah R dan Amrinola W. 2010. **Proses Pembuatan dan Karakterisasi Nasi Sorgum Instan**. Prosiding Pekan Serealia Nasional. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor. ISBN : 978-979-8940-29-3.
- Widyaningsih TD. 2011. **Aktivitas Imunomodulator dan Kemopreventif Ekstrak Air Cincau Hitam (Mesona palustris BL) terhadap Karsinogenesis pada Mencit yang Diinduksi Benzo(a)Pirena**. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Widyaningsih TD. 2007. **Cincau Hitam**. Trubus Agrisarana. Surabaya
- William M, 1997. **Food Experimental Prespectives**, Third Edition, Prentice Hall Inc. Upper Saddler River, New Jersey.
- Willson KC and Clifford MN. 1992. **Tea Cultivation to Consumption**. Chapman and Hall, London.
- Winarno FG. 1993. **Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen**. PT.Gramidia. Jakarta.
- Winarno MW, Dian S, dan Budi N. 2000. **Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (Scurulla atropurpurea Bl. Danser) terhadap Aktivitas Sistim Imun Mencit**. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi.

- Yen GC, Hung YL, and Hsieh CL. 2000. **Protective Effect of Extract of *Mesona procumbens* Hemsl. on DNA Damage in Human Lymphocytes Exposed to Hydrogen Peroxide and UV Irradiation.** Food and Chemical Toxicology 38 (2000) 747-754
- Yohana R dan Fahriadi. 2012. **Janggolan, daun cincau hitam yang kian populer.** <http://peluangusaha.kontan.co.id/news/janggolan-daun-cincau-hitam-yang-kian-populer-1>
- Yuwono SS dan Tri Susanto. 2001. **Pengujian Fisik Pangan.** UNESA University Press. Surabaya. Hal. 38-47
- Zhang S. 2003. **Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium*-induced diarrhea.** Infect. Immun.; 71:1-12

Lampiran 1. Prosedur Analisa Fisiko-Kimia dan Arganoleptik

A. Total Fenol (Metode Folin-ciocalteu) (Huang dan Yen, 2002)

➤ Sampel

1. Larutkan 0,25 mg sampel dalam 0,25 ml aquades (larutan sampel)
2. Tambahkan 0,25 ml reagen Folin-ciocalteu 50%
3. Kemudian campuran tersebut divortex selama 3 menit
4. Setelah itu larutan tersebut ditambahkan dengan Na_2CO_3 2% sebanyak 5 ml.
5. Disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit
6. Absorbansi diukur panjang gelombang 750 nm

➤ Kurva Standard

Buat kurva standard sesuai prosedur sampel, mengganti larutan sampel dengan menggunakan larutan asam kafeat berbagai konsentrasi

B. Analisa Aktivitas Antioksidan IC_{50} (Hatano, 1998)

1. Bahan dilarutkan dalam akuades dengan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80 ppm.
2. Ambil 4 ml masing-masing konsentrasi dan direaksikan dengan 1 ml larutan DPPH 0,2 mM dalam tabung reaksi yang berbeda.
3. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.
4. Ukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.
5. Aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dinyatakan dengan persen inhibisi, yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ sampel}) \times 100\%}{A \text{ blanko}}$$

Keterangan: A blanko = Absorbansi blanko

A sampel = Absorbansi sampel

6. Nilai konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear.
7. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a + bx$, digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*).
8. Nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%.

C. Penentuan Kadar Air Cara Vakum (Sudarmadji, 1997)

1. Timbang contoh yang telah berupa serbuk atau bahan yang telah dihaluskan sebanyak 1-2 gram dalam botol yang diketahui beratnya
2. Kemudian dikeringkan dalam oven vakum selama 3-5 jam dengan suhu 95-100°C atau 20-25°C di atas titik didih air pada tekanan yang digunakan (kurang lebih 25mm). Kemudian didinginkan dalam desikator dan timbang.

Perlakuan diulang sampai mencapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg).

3. Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Berat awal} - \text{Berat akhir}}{\text{Beratawal}} \times 100\%$$

D. Isolasi dan penghitungan sel limfosit

- 1 Limfosit diisolasi dari organ Limpa dengan medium RPMI.
- 2 Media RPMI dipompakan ke dalam organ sehingga limfosit ikut keluar bersama media
- 3 Suspensi sel dimasukkan dalam tabung sentrifus 10 mL dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm dengan suhu 5°C
- 4 Pelet yang didapat, disuspensikan ke dalam 2 mL *Tris Buffered Ammonium Chloride* untuk proses pelisisan eritrosit
- 5 Sel dicampur hingga homogen dan didiamkan pada suhu ruang selama 2 menit
- 6 FBS sebanyak 1 mL ditambahkan pada dasar tabung
- 7 Kemudian suspensi sel dicampur dan disentrifus pada 1200 rpm 5°C selama 5 menit dan supernatan dibuang
- 8 Pelet dicuci 2 kali dengan RPMI dan dilakukan proses seperti awal hingga didapatkan beningan dan sel limfosit disuspensikan pada medium komplit
- 9 Limfosit dihitung jumlahnya dengan hemositometer dengan pewarnaan biru tripan.
- 10 Sel yang hidup berwarna bening dan sel yang mati berwarna biru tua. Sel limfosit yang dihitung merupakan sel hidup.

E. Prosedur Elisa Interferon gamma pada mencit

- 1 Persiapan sampel serum : pengambilan whole blood pada mencit dengan speed, whole blood di sentrifuse untuk memisahkan serum dan eritrosit
- 2 Persiapan plate coated with capture antibody

- Pencucian dengan PBS-Tween sebanyak 2 kali
 - Masukkan serum mencit sebanyak 100 µl dan standard dan Inkubasi selama 2 jam
 - Cuci dengan PBS-Tween sebanyak 2 kali
 - Tambahkan detection antibody (anti IFN-gamma mouse) dan Inkubasi selama 2 jam
 - Cuci kembali dengan PBS-Tween sebanyak 2 kali
 - Tambahkan Straptavidin-HRP dan Inkubasi selama 30 menit
 - Cuci kembali dengan PBS-Tween
 - Tambahkan TMB substrat dan Inkubasi selama 10 menit dalam tempat yang gelap
 - Tambahkan stop solution
- 3** Pebacaan hasil pada elisa reader dengan panjang gelombang 450 nm

F. Rendemen (AOAC, 1984)

Rendemen dihitung dengan menggunakan metode gravimetri, perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui efisiensi proses pembuatan teh instan berbasis cincau hitam.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{a}{(b + c)} \times 100\%$$

a = berat serbuk teh cincau hitam instan yang dihasilkan (gram)

b = berat simplisia cincau hitam kering yang dipakai (gram)

c = berat bahan pengisi yang dipakai (gram)

G. Densitas Kamba (AOAC, 1984)

Sejumlah sampel serbuk teh cincau hitam instan dimasukkan ke dalam gelas ukur, ditimbang, lalu diukur volumenya.

$$\text{Densitas Kamba} \left(\frac{\text{gram}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{berat bahan}}{\text{volume bahan}}$$

H. Daya larut (AOAC, 1984)

Pengukuran daya larut dilakukan untuk mengukur tingkat daya larut serbuk teh instan berbasis cincau hitam yang dihasilkan. Dihitung dengan metode gravimetri, yaitu berdasarkan berat residu yang tertinggal pada kertas saring Whatman No. 42.

Sampel serbuk ditimbang sekitar 0,75 gram, kemudian dilarutkan dalam 100 ml air destilata dan disaring menggunakan corong Buchner dengan sistem vakum. Sebelum digunakan, kertas saring terlebih dahulu dikeringkan dalam oven dengan suhu 105⁰C selama 30 menit, kemudian ditimbang beratnya. Setelah proses penyaringan vakum, kertas saring beserta residu dikeringkan di dalam oven pada suhu 105⁰C selama 3 jam, kemudian ditimbang beratnya.

$$\text{Daya larut (\% bk.)} = 100 - (a-b) / \{ [(100 - KA) / 100] \times c \} \times 100\%$$

a = berat kertas saring + residu (g)

b = berat kertas saring (g)

c = berat sampel (g)

KA = kadar air sampel (% bb.)

I. Daya Serap Air (Yuwono, 2001)

Pengujian penyerapan air penting untuk produk yang memiliki kadar air relative rendah (lebih rendah dari 14%), seperti ibiskuit, kerupuk, dan produk instan. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui sifat pangan setelah dikontakkan dengan udara yang biasanya memiliki kadar air yang relative lebih tinggi. Dengan demikian dapat dilakukan usaha untuk mempertahankan mutu produk.

Prosedur pengujian penyerapan uap air dimulai dengan menyiapkan stoples kaca yang telah dimodifikasi memiliki sarangan/kasa di dalamnya diisi setengah dari tingginya dengan air. Sampel seberat 1,5 gram ditimbang dalam kaca arloji kemudian diletakkan pada sarangan didalam stoples, sampel tidak boleh kontak dengan air kemudian stoples ditutup dengan rapat. Setelah 4 jam sampel diambil dan ditimbang. Perhitungannya sebagai berikut

$$\text{Penyerapan air (\%)} = (\text{Berat akhir} - \text{berat awal}) \times 100\% / \text{Beratawal}$$

J. Warna (*Colour Reader*) (Yuwono, 2001)

Penggunaan alat *colour reader* adalah untuk mengukur warna dari produk hasil pengeringan dan hasil seduhan. Nilai L* menyatakan tingkat gelap-terang dengan kisaran 0-100. Nilai 0 menyatakan warna hitam atau sangat gelap. Nilai 100 menyatakan kecenderungan warna putih atau terang. Axis a* menunjukkan intensitas warna merah (+) atau hijau (-). Axis b* menyatakan intensitas warna kuning (+) atau biru (-) (Wijaya, 2009). Pengukuran warna serbuk teh instan dan hasil seduhan menggunakan

metode Yuwono (2001). Prosedur pengukuran skala warna berdasarkan standar warna yang telah ditentukan dengan menggunakan alat *colour reader* dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Menyiapkan sampel
- b. Menghidupkan color reader
- c. Menentukan target pembacaan $L^* a^* b^*$ color space atau $L^* c^* h^*$
- d. Memulai pengukuran warna

K. Uji Organoleptik

Panelis memberikan penilaian tingkat kesukaannya terhadap warna, aroma, rasa dari produk yang dihasilkan. Skala yang digunakan 1 sampai 7, yaitu (1) sangat tidak suka, (2) tidak suka, (3) agak tidak suka, (4) Netral, (5) agak suka, (6) suka dan (7) sangat suka. Pengujian menggunakan panelis tidak terlatih sebanyak 20 orang.

L. Prosedur Pemilihan Perlakuan Terbaik (De Garmo *et al.*,1984)

Langkah-langkah dalam menentukan perlakuan terbaik adalah :

- Mengurutkan parameter-parameter sesuai dengan prioritas dan kontribusinya terhadap hasil.
- Menentukan bobot pada setiap parameter sesuai dengan kontribusinya antara 0 sampai 1.
- Mencari bobot normal dari masing-masing parameter, yaitu bobot setiap parameter dibagi total bobot.
- Menghitung nilai efektifitas dengan menggunakan rumus berikut :

$$NE = \frac{Np - Nj}{Ntb - Ntj}$$

Keterangan : NE : Nilai efektifitas

Np : Nilai perlakuan

Ntj : Nilai terjelek

Ntb : Nilai terbaik

Untuk parameter dengan nilai rerata semakin besar semakin baik, maka rerata terendah sebagai nilai terjelek dan rerata tertinggi sebagai nilai terbaik. Sebaliknya untuk parameter dengan nilai rerata semakin kecil semakin baik, maka rerata terendah sebagai nilai terbaik dan rerata tertinggi sebagai nilai terjelek.

- Menghitung nilai produk yang diperoleh dengan perkalian antara bobot normal dengan nilai efektifitas.
- Menjumlahkan nilai-nilai produk dari parameter untuk setiap kali perlakuan.
- Perlakuan terbaik dipilih dari jumlah nilai produk yang tertinggi

Lampiran 2. Lembar Uji Organoleptik

Uji Organoleptik

Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Nama Penguji :

Tanggal :

Dihadapan saudara terdapat 6 macam sampel Teh Instan Cincau Hitam. Saudara/i diminta memberikan penilaian terhadap kenampakan Teh Instan, warna minuman, aroma minuman dan rasa minuman. Penilaian didasarkan atas skor 7-1 (mulai dari sangat menyukai sampai tidak menyukai). Atas kesediaan saudara saya ucapkan terima kasih.

7. Sangat menyukai
6. Menyukai
5. Agak menyukai
4. Netral/ biasa
- 3 . Agak tidak menyukai
2. Tidak menyukai
1. Sangat tidak menyukai

Kode sampel	Kenampakan serbuk	Warna minuman	Aroma minuman	Rasa minuman

Saran dan Komentari :

.....
.....

Lampiran 3. Lembar Penilaian Perlakuan Terbaik

Nama Penguji :
Hari/tanggal :
Nama Produk : Ikan Asin Gabus

1. Parameter Kimia- Fisik

Berikut disajikan parameter kimia-fisik Ikan Asin Gabus yang meliputi Kadar Garam, Kadar Abu, Kadar Air, Nilai Aktivitas Air (A_w) Kadar Protein dan Total Volatil Basa Nitrogen. Saudara diminta untuk mengurutkan berdasarkan penilai saudara dari yang kurang penting sampai yang sangat penting (1 – 6).

Parameter	Nilai Kepentingan
Total Fenol	
Aktivitas Antioksidan (IC_{50})	
Kadar Air	
Densitas Kamba	
Daya Larut	
Daya Serap Air	
Warna L	

2. Parameter Organoleptik

Berikut ini disajikan parameter organoleptik dari Ikan Asin Gabus yang meliputi warna, aroma, tekstur dan rasa. Saudara diminta mengurutkan berdasarkan penilaian saudara dari yang kurang penting sampai yang paling penting (1 – 4)

Parameter	Nilai Kepentingan
Warna	
Aroma	
Tekstur	
Rasa	

Lampiran 4. Data Analisa Ragam Total Fenol Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	3,80	4,10	3,99	4,18	16,06	4,02
F1	3,90	4,33	4,22	4,45	16,89	4,22
F2	4,48	4,78	4,74	4,78	18,76	4,69
F3	4,23	4,60	4,27	4,35	17,45	4,36
F4	4,30	4,78	4,42	4,60	18,09	4,52
F5	4,13	4,55	4,34	4,55	17,56	4,39
Jml	24,83	27,13	25,97	26,90	104,82	26,21

ANOVA

Kadar Total Fenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.102	5	.220	6.127	.002
Within Groups	.648	18	.036		
Total	1.749	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Kadar Total Fenol

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
100;0;0	4	4.0175		
80;20;0	4	4.2250	4.2250	
80;10;10	4		4.3625	
70;15;15	4		4.3925	
75;12,5;12,5	4		4.5250	4.5250
80;0;20	4			4.6950
Sig.		.139	.053	.221

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5. Data Analisa Ragam Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	114,11	177,10	176,87	159,68	627,76	156,94
F1	134,21	215,54	220,37	187,09	757,20	189,30
F2	88,61	135,29	136,37	130,07	490,33	122,58
F3	115,04	166,79	172,94	168,83	623,61	155,90
F4	107,70	156,73	160,20	155,87	580,51	145,13
F5	106,32	162,95	178,21	151,45	598,93	149,73
Jml	665,97	1014,41	1044,97	952,99	3678,33	919,58

ANOVA

Antioksidan (IC 50)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9356.603	5	1871.321	2.119	.110
Within Groups	15897.952	18	883.220		
Total	25254.555	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Antioksidan (IC 50)

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
80;0;20	4	122.5850	
75;12,5;12,5	4	145.1250	145.1250
70;15;15	4	149.7325	149.7325
80;10;10	4	155.9000	155.9000
100;0;0	4	156.9400	156.9400
80;20;0	4		189.3025
Sig.		.157	.073

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 6. Data Analisa Ragam Kadar Air Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	6,44	6,21	5,62	5,52	23,79	5,95
F1	6,66	5,98	7,24	6,12	26,00	6,50
F2	6,56	5,84	5,69	5,50	23,60	5,90
F3	7,17	6,66	5,81	5,80	25,44	6,36
F4	6,38	5,98	6,31	5,90	24,57	6,14
F5	6,72	6,34	6,25	5,79	25,11	6,28
Jml	39,94	37,01	36,93	34,63	148,51	37,13

ANOVA

Antioksidan (IC 50)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9356.603	5	1871.321	2.119	.110
Within Groups	15897.952	18	883.220		
Total	25254.555	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Antioksidan (IC 50)

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
80;0;20	4	122.5850	
75;12,5;12,5	4	145.1250	145.1250
70;15;15	4	149.7325	149.7325
80;10;10	4	155.9000	155.9000
100;0;0	4	156.9400	156.9400
80;20;0	4		189.3025
Sig.		.157	.073

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7. Data Analisa Ragam Densitas Kamba Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	0,80	0,81	0,76	0,76	3,13	0,78
F1	0,69	0,76	0,82	0,77	3,04	0,76
F2	0,78	0,77	0,78	0,75	3,09	0,77
F3	0,73	0,71	0,74	0,77	2,96	0,74
F4	0,73	0,75	0,83	0,85	3,16	0,79
F5	0,71	0,72	0,81	0,75	2,99	0,75
Jml	4,43	4,53	4,76	4,65	18,36	4,59

ANOVA

Densitas Kamba

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.008	5	.002	.993	.450
Within Groups	.030	18	.002		
Total	.038	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Densitas Kamba

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
80;10;10	4	.7375
70;15;15	4	.7475
80;20;0	4	.7600
80;0;20	4	.7700
100;0;0	4	.7825
75;12,5;12.5	4	.7900
Sig.		.120

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 8. Data Analisa Ragam Daya Larut Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	98,60	98,60	98,60	98,60	394,41	98,60
F1	98,14	98,16	98,13	98,15	392,58	98,14
F2	95,98	96,01	96,00	96,02	384,01	96,00
F3	94,36	94,39	94,44	94,44	377,61	94,40
F4	95,16	95,18	95,16	95,18	380,68	95,17
F5	96,73	96,74	96,73	96,76	386,95	96,74
Jml	578,96	579,08	579,06	579,14	2316,24	579,06

ANOVA

Daya Larut

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.272	5	10.854	2.771E4	.000
Within Groups	.007	18	.000		
Total	54.279	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Daya Larut

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
80;10;10	4	94.4075	95.1700	96.0025	96.7400	98.1450	98.6000
75;12,5;12.5	4						
80;0;20	4						
70;15;15	4						
80;20;0	4	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
100;0;0	4						
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 9. Data Analisa Ragam Daya Serap Air Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	8,42	10,34	8,34	8,24	35,33	8,83
F1	9,89	12,73	9,75	9,37	41,74	10,43
F2	7,32	10,56	8,22	8,55	34,65	8,66
F3	8,53	10,78	8,24	8,68	36,23	9,06
F4	9,65	11,26	9,63	9,78	40,31	10,08
F5	9,79	11,33	9,74	9,97	40,83	10,21
Jml	53,58	67,00	53,91	54,59	229,08	57,27

ANOVA

Daya Serap Air

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.151	5	2.430	1.865	.151
Within Groups	23.450	18	1.303		
Total	35.601	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Daya Serap Air

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
80;0;20	4	8.6625	
100;0;0	4	8.8350	
80;10;10	4	9.0575	
75;12,5;12.5	4	10.0800	
70;15;15	4	10.2075	
80;20;0	4	10.4350	
Sig.		.065	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 10. Data Analisa Ragam Warna L Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Tabel Data

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
K	35,60	32,10	36,30	36,50	140,50	35,13
F1	35,40	34,60	36,30	36,20	142,50	35,63
F2	33,20	34,50	34,20	35,20	137,10	34,28
F3	35,30	35,50	35,30	34,90	141,00	35,25
F4	34,20	34,60	34,80	34,30	137,90	34,48
F5	34,60	32,60	34,10	35,80	137,10	34,28
Jml	208,30	203,90	211,00	212,90	836,10	209,03

ANOVA

Kacarahan (L)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.549	5	1.310	1.058	.415
Within Groups	22.287	18	1.238		
Total	28.836	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Kacarahan (L)

Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
80;0;20	4	34.2750
70;15;15	4	34.2750
75;12,5;12.5	4	34.4750
100;0;0	4	35.1250
80;10;10	4	35.2500
80;20;0	4	35.6250
Sig.		.144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 11. Data dan Analisa Friedman Organoleptik Warna Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Panelis	Perlakuan					
	K	F1	F2	F3	F4	F5
1	5	5	5	5	5	6
2	4	4	4	4	4	4
3	6	5	5	3	7	6
4	4	3	4	4	4	7
5	4	4	4	6	4	6
6	6	4	5	7	4	7
7	7	4	7	7	4	6
8	5	6	7	7	6	6
9	6	4	6	6	7	5
10	7	6	6	5	7	4
11	6	6	5	3	7	3
12	6	5	6	6	6	3
13	5	5	5	5	5	5
14	6	5	5	4	7	7
15	6	6	5	5	5	3
16	5	6	5	3	6	2
17	4	4	4	4	5	4
18	5	4	4	3	6	7
19	5	7	5	4	4	7
20	5	4	4	3	6	4
Jumlah	107	97	101	94	109	102
Rerata	5,35	4,85	5,05	4,70	5,45	5,10

Friedman Test

Ranks

	Mean Rank
Cincau hitam 100%	3.88
Cincau hitam 80%:Daun pandan 20%:Kayu manis 0%	3.02
Cincau hitam 80%:Daun pandan 0%:Kayu manis 20%	3.40
Cincau hitam 80%:Daun pandan 10%:Kayu manis 10%	3.02
Cincau hitam 75%:Daun pandan 12,5%:Kayu manis 12,5%	4.12
Cincau hitam 70%:Daun pandan 15%:Kayu manis 15%	3.55

Test Statistics^a

N	20
Chi-Square	7.654
df	5
Asymp. Sig.	.176

a. Friedman Test

Lampiran 12. Data dan Analisa Friedman Organoleptik Aroma Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Penelis	Perlakuan					
	K	F1	F2	F3	F4	F5
1	4	5	4	4	4	4
2	6	5	6	4	5	6
3	6	7	6	6	7	4
4	3	5	3	2	4	6
5	4	3	7	7	4	4
6	7	6	7	4	7	4
7	6	6	5	4	7	4
8	7	6	7	6	6	5
9	4	5	5	6	7	5
10	7	7	6	4	7	3
11	3	5	3	2	7	7
12	4	4	6	6	6	6
13	4	4	4	4	5	4
14	7	6	7	5	7	3
15	5	5	5	4	5	3
16	5	4	4	4	7	5
17	5	4	4	4	7	4
18	4	4	3	4	3	5
19	6	4	6	4	5	4
20	6	4	4	3	6	4
Jumlah	103	99	102	87	116	90
Rerata	5,15	4,95	5,10	4,35	5,80	4,50

Friedman Test

Ranks

	Mean Rank
Cincau hitam 100%	3.92
Cincau hitam 80%:Daun pandan 20%:Kayu manis 0%	3.40
Cincau hitam 80%:Daun pandan 0%:Kayu manis 20%	3.62
Cincau hitam 80%:Daun pandan 10%:Kayu manis 10%	2.52
Cincau hitam 75%:Daun pandan 12,5%:Kayu manis 12,5%	4.58
Cincau hitam 70%:Daun pandan 15%:Kayu manis 15%	2.95

Test Statistics^a

N	20
Chi-Square	18.448
df	5

Asymp. Sig. .002

a. Friedman Test

Lampiran 13. Data dan Analisa Friedman Organoleptik Rasa Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Panelis	Perlakuan					
	K	F1	F2	F3	F4	F5
1	4	4	4	4	4	4
2	2	2	3	3	2	3
3	6	4	6	4	5	4
4	3	4	3	4	1	2
5	4	3	6	7	4	7
6	5	6	4	2	7	3
7	6	4	5	4	4	4
8	6	6	7	5	6	3
9	4	3	4	4	6	5
10	6	4	5	4	7	4
11	5	6	2	4	6	5
12	4	2	4	4	4	2
13	4	4	4	4	5	5
14	6	5	7	4	7	6
15	3	4	3	4	4	3
16	6	3	4	3	4	5
17	5	5	5	5	5	4
18	4	4	4	5	5	3
19	6	4	6	4	4	4
20	5	5	4	4	4	3
Jumlah	94	82	90	82	94	79
Rerata	4,70	4,10	4,50	4,10	4,70	3,95

Friedman Test

Ranks

	Mean Rank
Cincau hitam 100%	3.95
Cincau hitam 80%:Daun pandan 20%:Kayu manis 0%	3.08
Cincau hitam 80%:Daun pandan 0%:Kayu manis 20%	3.85
Cincau hitam 80%:Daun pandan 10%:Kayu manis 10%	3.18
Cincau hitam 75%:Daun pandan 12,5%:Kayu manis 12,5%	4.10
Cincau hitam 70%:Daun pandan 15%:Kayu manis 15%	2.85

Test Statistics^a

N	20
Chi-Square	10.155
df	5
Asymp. Sig.	.071

Test Statistics^a

N	20
Chi-Square	10.155
df	5
Asymp. Sig.	.071

a. Friedman Test

Lampiran 14. Data dan Analisa Friedman Organoleptik Kenampakan Teh Instan berbasis Cincau Hitam

Panelis	Perlakuan					
	K	F1	F2	F3	F4	F5
1	6	6	6	6	6	6
2	4	4	4	4	4	4
3	6	4	5	7	6	3
4	6	4	5	4	6	5
5	4	4	6	6	4	4
6	4	4	5	4	5	4
7	5	5	6	7	6	6
8	3	3	3	3	4	4
9	4	5	4	6	4	6
10	6	6	6	4	6	5
11	4	7	6	7	7	2
12	6	6	6	2	7	4
13	4	4	4	4	4	4
14	6	5	6	7	7	3
15	4	4	4	2	5	3
16	3	4	5	2	6	4
17	5	5	5	4	5	5
18	5	5	4	3	5	4
19	5	6	5	4	4	6
20	6	7	5	2	3	4
Jumlah	96	98	100	88	104	86
Rerata	4,80	4,90	5,00	4,40	5,20	4,30

Friedman Test

Ranks

	Mean Rank
Cincau hitam 100%	3.45
Cincau hitam 80%:Daun pandan 20%:Kayu manis 0%	3.52
Cincau hitam 80%:Daun pandan 0%:Kayu manis 20%	3.72
Cincau hitam 80%:Daun pandan 10%:Kayu manis 10%	2.95
Cincau hitam 75%:Daun pandan 12,5%:Kayu manis 12,5%	4.28
Cincau hitam 70%:Daun pandan 15%:Kayu manis 15%	3.08

Test Statistics^a

N	20
Chi-Square	9.192
df	5
Asymp. Sig.	.102

a. Friedman Test

Lampiran 15. Data Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kepentingan Fisik-Kimia dan Organoleptik Teh Instan berbasis Cincau Hitam

a. Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kepentingan Fisik-Kimia (Nilai 1 - 7 Mulai dari Kurang Penting - Sangat Penting)

Parameter	Panelis																				Total	Bobot
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
Antioksidan	6	6	7	6	5	5	6	4	7	6	7	6	6	7	7	7	6	6	7	6	123	0,22
Total Fenol	2	5	3	7	7	7	7	5	5	7	6	7	5	6	6	6	7	7	5	7	117	0,21
Kadar Air	5	4	6	5	6	6	2	1	1	5	4	5	4	2	4	5	4	3	6	5	83	0,15
D. Kamba	4	1	5	3	4	4	3	6	2	4	2	4	3	3	2	4	3	5	1	1	64	0,11
Daya Larut	7	7	4	1	2	3	1	2	6	3	1	1	2	5	5	2	1	2	3	4	62	0,11
Daya Serap	3	2	2	2	1	2	5	7	4	2	5	3	1	1	3	3	5	1	4	3	59	0,11
Warna L	1	3	1	4	3	1	4	3	3	1	3	2	7	4	1	1	2	4	2	2	52	0,09
Total	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	560	1,00

b. Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kepentingan Organoleptik (Nilai 1 - 6 Mulai dari Kurang Penting - Sangat Penting)

Parameter	Panelis																				Total	Bobot
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
Warna	1	3	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	4	2	37	0,19
Aroma	3	4	4	4	4	1	4	1	1	4	3	4	3	4	4	4	4	3	2	4	65	0,33
Tekstur	4	2	3	1	2	2	1	4	3	3	4	1	4	1	2	3	3	4	1	3	51	0,26
Rasa	2	1	2	3	3	4	2	2	4	1	2	3	2	3	3	2	2	2	3	1	47	0,24
Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	200	1,00

Lampiran 16. Nilai Efektivitas Fisik-Kimia dan Organoleptik

a. Nilai Efektivitas Fisik-Kimia

Parameter		IC50	Kdr. Fenol	Kdr. Air	Densitas Kamba	Daya Larut	Daya Serap Air	Warna L
Perlakuan	K	156,94	4,02	5,95	0,78	98,60	8,83	35,13
	F1	189,30	4,22	6,50	0,76	98,14	10,43	35,63
	F2	122,58	4,69	5,90	0,77	96,00	8,66	34,28
	F3	155,90	4,36	6,36	0,74	94,40	9,06	35,25
	F4	145,13	4,52	6,14	0,79	95,17	10,08	34,48
	F5	149,73	4,39	6,28	0,75	96,74	10,21	34,28
Ntb (Nilai terbaik)		122,58	4,69	5,90	0,74	98,60	8,66	35,63
Ntj (Nilai terjelek)		189,30	4,02	6,50	0,79	94,40	10,43	34,28
NE	K	0,49	0,00	0,92	0,13	1,00	0,90	0,03
	F1	0,00	0,31	0,00	0,56	0,89	0,00	0,05
	F2	1,00	1,00	1,00	0,34	0,38	1,00	0,00
	F3	0,50	0,51	0,23	1,00	0,00	0,78	0,04
	F4	0,66	0,75	0,60	0,00	0,18	0,20	0,01
	F5	0,59	0,56	0,37	0,85	0,56	0,13	0,00

b. Nilai Efektivitas Organoleptik

Parameter		Warna	Aroma	Kenampakan	Rasa
Perlakuan	K	5,35	5,15	4,80	4,70
	F1	4,85	4,95	4,90	4,10
	F2	5,05	5,10	5,00	4,50
	F3	4,70	4,35	4,40	4,10
	F4	5,45	5,80	5,20	4,70
	F5	5,10	4,50	4,30	3,95
Ntb (Nilai terbaik)		5,45	5,8	5,2	4,7
Ntj (Nilai terjelek)		4,7	4,35	4,3	3,95
NE	K	0,87	0,55	0,56	1,00
	F1	0,20	0,41	0,67	0,20
	F2	0,47	0,52	0,78	0,73
	F3	0,00	0,00	0,11	0,20
	F4	1,00	1,00	1,00	1,00
	F5	0,53	0,10	0,00	0,00

Lampiran 17. Data Pemilihan Perlakuan Terbaik Parameter Fisik – Kimia dan Organoleptik

a. Data Pemilihan Perlakuan Terbaik Parameter Fisik – Kimia

Parameter	Bobot	K		F1		F2		F3		F4		F5	
		NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP
IC50	0,22	0,49	0,11	0,00	0,00	1,00	0,22	0,50	0,11	0,66	0,15	0,59	0,13
Kdr. Fenol	0,21	0,00	0,00	0,31	0,06	1,00	0,21	0,51	0,11	0,75	0,16	0,56	0,12
Kdr. Air	0,15	0,92	0,14	0,00	0,00	1,00	0,15	0,23	0,03	0,60	0,09	0,37	0,06
Densitas Kamba	0,11	0,13	0,01	0,56	0,06	0,34	0,04	1,00	0,11	0,00	0,00	0,85	0,10
Daya Larut	0,11	1,00	0,11	1,00	0,11	1,00	0,11	1,00	0,11	1,00	0,11	1,00	0,11
Daya Serap Air	0,11	0,90	0,10	0,00	0,00	1,00	0,11	0,78	0,08	0,20	0,02	0,13	0,01
Warna L	0,09	0,03	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
Total	1,000		0,467		0,244		0,832		0,562		0,524		0,523
Perl. Terbaik						(*)							

Perlakuan terbaik (*) = F2 (formula teh instan cincau hitam 80%, serbuk daun pandan 0% dan serbuk kayu manis 20%)

b. Data Pemilihan Perlakuan Terbaik Parameter Organoleptik

Parameter	Bobot	K		F1		F2		F3		F4		F5	
		NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP
Warna	0,19	0,87	0,16	0,20	0,04	0,47	0,09	0,00	0,00	1,00	0,19	0,53	0,10
Aroma	0,33	0,55	0,18	0,41	0,13	0,52	0,17	0,00	0,00	1,00	0,33	0,10	0,03
Kenampakan	0,26	0,56	0,14	0,67	0,17	0,78	0,20	0,11	0,03	1,00	0,26	0,00	0,00
Rasa	0,24	1,00	0,24	0,20	0,05	0,73	0,17	0,20	0,05	1,00	0,24	0,00	0,00
Total	1,0000		0,716		0,388		0,625		0,075		1,000		0,132
Perl. Terbaik										(*)			

Perlakuan terbaik (*) = F4 (formula teh instan cincau hitam 75%, serbuk daun pandan 12,5% dan serbuk kayu manis 12,5%)

Keterangan :

NE = Nilai Efektifitas

NP = Nilai Produk

Lampiran 18. Data Rerata Jumlah Sel Limfosit (sel/ml) pada Organ Limpa Mencit

Ragam	Ulangan (10^6)				Jml (10^6)	Rerata (10^6)
	1	2	3	4		
Kontrol negatif (sht)	3,60	3,40	4,80	3,00	14,80	3,70
Kontrol positif (skt)	5,00	4,80	3,60	5,80	19,20	4,80
TICH dosis 1 (sht)	4,00	4,80	5,40	6,00	20,20	5,05
TICH dosis 1 (skt)	7,80	8,00	8,60	7,60	32,00	8,00
TIBCH dosis 1 (sht)	5,40	6,20	6,40	9,60	27,60	6,90
TIBCH dosis 1 (skt)	7,60	7,80	8,00	9,00	32,40	8,10
TIBCH dosis 2 (sht)	7,60	7,20	6,20	7,00	28,00	7,00
TIBCH dosis 2 (skt)	8,60	7,40	7,60	10,00	33,60	8,40
Jml	49,60	49,60	50,60	58,00	207,80	51,95

ANOVA

Jumlah Sel Limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.665E13	7	1.238E13	12.509	.000
Within Groups	2.375E13	24	9.896E11		
Total	1.104E14	31			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Jumlah Sel Limfosit

Duncan

Ragam Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol negatif	4	3.70E6	
Kontrol positif	4	4.80E6	
TICH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sehat	4	5.05E6	
TIBCH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sehat	4		6.90E6
TIBCH dosis 36,4mg/0,2ml/hari kondisi sehat	4		7.00E6
TICH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sakit	4		8.00E6
TIBCH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sakit	4		8.10E6
TIBCH dosis 36,4mg/0,2ml/hari kondisi sakit	4		8.40E6
Sig.		.081	.066

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 19. Data Rerata kadar IFN- γ (pg/ml) pada Serum Mencit

Ragam	Ulangan				Jml	Rerata
	1	2	3	4		
Kontrol negatif (sht)	13,93	13,52	14,15	13,56	55,16	13,79
Kontrol positif (skt)	12,55	14,04	14,22	14,05	54,86	13,72
TICH dosis 1 (sht)	17,20	18,83	18,95	18,83	73,81	18,45
TICH dosis 1 (skt)	14,10	14,06	14,10	13,73	55,99	14,00
TIBCH dosis 1 (sht)	19,22	16,20	19,36	19,38	74,16	18,54
TIBCH dosis 1 (skt)	14,28	14,34	14,38	14,04	57,04	14,26
TIBCH dosis 2 (sht)	19,15	19,31	18,89	18,88	76,23	19,06
TIBCH dosis 2 (skt)	14,43	14,58	14,41	14,53	57,96	14,49
Jml	124,85	124,88	128,46	127,02	505,21	126,30

ANOVA

Interferon gamma

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	163.536	7	23.362	47.356	.000
Within Groups	11.840	24	.493		
Total	175.376	31			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Interferon gamma

Duncan

Ragam Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol positif	4	13.7150	
Kontrol negatif	4	13.7900	
TICH disis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sakit	4	13.9975	
TIBCH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sakit	4	14.2600	
TIBCH dosis 36,4mg/0,2ml/hari kondisi sakit	4	14.4875	
TICH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sehat	4		18.4525
TIBCH dosis 18,2mg/0,2ml/hari kondisi sehat	4		18.5400
TIBCH dosis 36,4mg/0,2ml/hari kondisi sehat	4		19.0575
Sig.		.176	.261

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 152-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL : FORMULASI FLAVOUR AGENT ALAMI (DAUN PANDAN
DAN KAYU MANIS) PADA TEH INSTAN BERBASIS
CINCAU HITAM UNTUK MENINGKATKAN AKTIVITAS
SISTEM IMUN MENCIT**

PENELITI : RAHMANI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 8 Mei 2013
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 21. Tabel Konversi Dosis antara Jenis Hewan dengan Manusia
(Laurence and Bacharach, 1964).

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1	7	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1	1,74	3,9	9,2	17,8	56
Marmut 400 g	0,08	0,57	1	2,25	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,2 kg	0,04	0,25	0,44	1	2,4	4,5	14,2
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,52	1	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,16	0,32	1

Gambar 26. Proses Produksi Teh Instan berbasis Cincau Hitam



Penggilingan Bahan



Ekstraksi Bahan Baku



Penyaringan dengan pengepres hedrolik



Epavorasi



Pencampuran bahan pengisi



Persiapan pengeringan



Pengeringan



Bahan hasil pengeringan

Gambar 27. Perlakuan Pada Hewan Coba (Mencit)

Kontrol negatif



TICH doses 1, kondisi sehat



Kontrol positif



TICH doses 1, kondisi sakit



TIBCH doses 1, kondisi sehat



TIBCH doses 2, kondisi sehat



TIBCH doses 1, kondisi sakit



TIBCH doses 2, kondisi sakit



Produk sesuai doses

Pemberian Produk pada mencit/Sonde



Penyuntikan *Salmonella typhimurium* pada mencit



Elisa Interferon gamma pada mencit



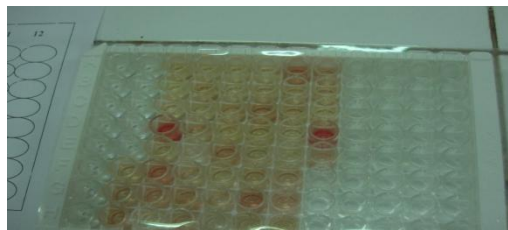
pengambilan serum dan limpa



pencucian dengan PBS-Tween



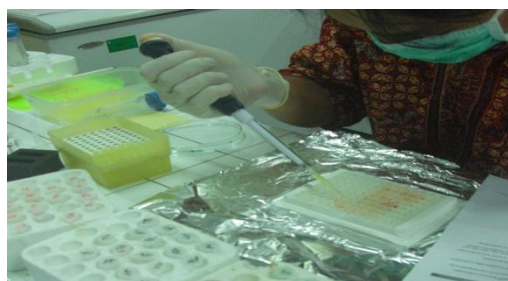
serum mencit atau standard



inkubasi selama 2 jam



penambahan detection antibody



penambahan streptavidin-HRP



penambahan TMB substrat



penambahan stop solution



pembacaan hasil dengan
elisa reader $\lambda=450$ nm